

ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

СОБКО ГАЛИНА ВАСИЛІВНА

УДК 636.2:612.017:57.088.6:618.19-002

**СТАН ІМУННОЇ Й АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ ОРГАНІЗМУ
КОРІВ, ХВОРИХ НА СУБКЛІНІЧНУ ФОРМУ МАСТИТУ, ЗА ДІЇ
АПІФІТОПРЕПАРАТУ**

03.00.04 – біохімія
(ветеринарні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня
кандидата ветеринарних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Г. В. Собко

Науковий керівник:
КУРТЯК БОГДАН МИХАЙЛОВИЧ
доктор ветеринарних наук, професор

Львів–2018

АНОТАЦІЯ

Собко Г. В. — Стан імунної й антиоксидантної систем організму корів, хворих на субклінічну форму маститу, за дії апіфітопрепарату. — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук (доктора філософії) за спеціальністю 03.00.04 «біохімія». — Інститут біології тварин НААН, Львів, 2018.

Мета — вивчення біохімічних аспектів імунобіологічної реактивності організму корів, хворих на субклінічну форму маститу, та її зміни в процесі лікування апіфітопрепаратами, які володіють антиоксидантними та імуномодуючими властивостями, що є особливо актуальним при лікуванні та має велику наукову цінність та важливе практичне значення.

Експериментальні дослідження проведені в Інституті біології тварин НААН упродовж 2015–2017 рр.

У першому досліді вивчали вплив інтрацистернального введення апіфітопрепарату «Антимаст», що містить у своєму складі прополіс бджолиний, витяжку з підмору бджіл, віск бджолиний, олію касторову та олію рослинну на активність клітинного і гуморального імунітету та систему антиоксидантного захисту організму корів при субклінічному маститі. Дослід проведено на двох групах корів у другій фазі лактації. У пробах незбираного молока корів визначали концентрацію соматичних клітин віскозиметричним експрес-методом на аналізаторі «АМВ 1-02»: контрольна група — кількість соматичних клітин не перевищувала 400 тис/см³, дослідна — кількість соматичних клітин знаходилась в межах від 500 тис. до 1 млн. у 1 см³. Коровам дослідної групи інтрацистернально в уражені чверті вимені тричі з інтервалом 24 години було введено по одному шприцу-тубі (13 мл) препарату. У здорові чверті молочної залози профілактично вводили половину лікувальної дози.

Кров для проведення досліджень брали з яремної вени у корів на 1-шу добу (перед введенням препарату), на 3-тю добу лікування та 9-ту добу від початку лікування. В аналогічні періоди відбирали зразки молока.

Дослідження показали, що субклінічний мастит у корів супроводжується вірогідним зростанням у крові загальної кількості лейкоцитів і зниження вмісту загального протеїну порівняно з тваринами контрольної групи. Інтрацистернальне введення препарату «Антимаст» сприяло зменшенню загальної кількості лейкоцитів, особливо на 9-ту добу від початку лікування та спричиняло зростання вмісту загального протеїну у сироватці крові.

Частка сегментоядерних нейтрофілів у корів із субклінічною формою маститу була вірогідно більшою, ніж у тварин контрольної групи. Відмічено яскраво виражену лімфопенію до введення препарату та на 3-тю добу досліджень ($p < 0,01$; $p < 0,05$). У динаміці лікування встановлено зміни лейкоцитарної формули — зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів на 9-ту добу від початку лікування ($p < 0,05$) та збільшення кількості лімфоцитів ($p < 0,01$).

У хворих корів констатовано зменшення кількості активних ($p < 0,01$) і теофілін-резистентних Т-лімфоцитів крові ($p < 0,05$). Зміни кількості ТА-РУЛ і Th-лімфоцитів у крові корів цієї групи відбувається за рахунок зменшення популяції клітин із низькою щільністю рецепторів ($p < 0,01$) і збільшення недиференційованих у функціональному відношенні Т-лімфоцитів ($p < 0,01$). Подібні зміни зафіксовано при дослідженні кількості ТЕ-РУЛ і антигензв'язуючих В-лімфоцитів крові. Проте різниці були вірогідними порівняно до контролю лише за кількістю ТЕ-РУЛ та ЕАС-РУЛ із низькою щільністю рецепторів.

У корів дослідної групи на 9-ту добу після введення препарату кількість Т- (активних і теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів у крові була більша порівняно до контролю ($p < 0,01$). При цьому, кількість Th-РУЛ і ЕАС-РУЛ з низькою щільністю рецепторів у крові корів дослідної групи була більша ($p < 0,01$), а недиференційованих у функціональному відношенні клітин — менша ($p < 0,01$).

У корів, хворих на приховану форму маститу, встановлено незначне підвищення фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів на тлі

вірогідного зниження фагоцитарного індексу та підвищення спонтанного НСТ-тесту. На третю добу після введення препарату «Антимаст» величина НСТ-тесту була на 4,2 % вищою, ніж у корів контрольної групи, проте до дев'ятої доби цей показник знижувався до рівня нормативних величин, і різниця, порівняно до початку лікування, була вірогідна.

Субклінічний запальний процес у молочній залозі корів проявлявся зниженням рівня бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові. Дослідження виявили надмірне антигенне навантаження та накопичення метаболітів запалення в організмі хворих корів, що виражено у суттєвому збільшенні кількості циркулюючих імунних комплексів ($p < 0,01$). Бактерицидна активність сироватки крові зростає у тварин дослідної групи на 9-ту добу після інтрацистернального введення препарату ($p < 0,05$). Концентрація ЦІК у сироватці крові тварин дослідної групи на 9-ту добу експерименту вірогідно зменшилась.

Вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові хворих корів на першу добу експерименту (до введення препарату) був на 9,57 % більший, ніж у тварин контрольної групи ($p < 0,05$).

Глутатіонпероксидазна активність та вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, були на рівні клінічно здорових тварин. Водночас, у крові корів дослідної групи, порівняно до контрольної на 3-тю і 9-ту добу після введення препарату зафіксовано тенденцію до підвищення ГП-активності та збільшення вмісту відновленого глутатіону.

Встановлено, що у тварин з ознаками маститу до початку лікування у молоці вміст альдегідних (ОМП₃₇₀) та кетонових похідних (ОМП₄₃₀) був вірогідно вищим порівняно з показниками молока корів контрольної групи. Введення препарату викликало зниження інтенсивності окисних процесів, що виявилось у вірогідному зменшенні вмісту в молоці корів дослідної групи альдегідних похідних на 3-тю та 9-ту добу після початку лікування. Аналогічні зміни зафіксовано щодо вмісту кетонових похідних. На 3-тю та 9-ту доби від

початку лікування відзначено тенденцію до зростання активності супероксиддисмутази у молоці тварин дослідної групи порівняно із показниками цих тварин на початку досліджу.

У молоці тварин дослідної групи відзначено суттєве збільшення кількості соматичних клітин, що пов'язано з субклінічною формою маститу ($p < 0,001$). На 9-ту добу від початку лікування їх рівень вірогідно знижувався порівняно до 1-ої доби експерименту.

У другому досліді досліджували стан імунного й антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування мазі «Антимаст» (РП № АВ-03772-01-12 від 16.10.2012 р.), що містить у своєму складі прополіс бджолиний, витяжку з підмору бджіл, віск бджолиний, живицю соснову, олію касторову, олію камфорну та олію рослинну. Дослід проведено на двох групах корів у другій фазі лактації. Корів обох груп аналогічно попередньому досліді діагностовано на субклінічні форми маститу: контрольна група — здорові тварини, дослідна група — з ознаками субклінічного маститу. Коровам дослідної групи після доїння один раз на добу впродовж 7 діб втирали в шкіру вимені мазь.

Матеріал для проведення лабораторних досліджень відбирали у періоди аналогічно попередньому експерименту.

Морфологічні дослідження крові показали зменшення кількості лейкоцитів у крові корів на 9-ту добу лікування, порівняно із рівнем зафіксованим на 1-шу добу ($p < 0,05$). Кількість сегментоядерних нейтрофілів у периферичній крові корів дослідної групи була більшою, а лімфоцитів меншою до початку лікування та на 3-тю добу лікування ($p < 0,01$; $p < 0,05$). Використання мазі «Антимаст» сприяло вірогідному зменшенню сегментоядерних нейтрофілів та збільшенню лімфоцитів на 9-ту добу від початку лікування порівняно з 1-ю добою експерименту.

Аналіз функціональної активності ТЕ-РУЛ показав вірогідно більшу кількість недиференційованих клітин та меншу низькоавідних у корів хворих на приховану форму маститу порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$).

Використання мазі сприяє зменшенню кількості «нульових» ТЕ-РУЛ на 3-тю та 9-ту добу експерименту ($p < 0,01$; $p < 0,001$). Водночас встановлено збільшення кількості низькоавідних лімфоцитів на 9-ту добу від початку лікування ($p < 0,01$).

У хворих корів констатовано зменшення кількості Т-активних ($p < 0,05$ – $0,01$) і теофілін-резистентних ($p < 0,05$) Т-лімфоцитів крові. Щодо ступеня їх диференціації, то зміни кількості ТА-РУЛ і Th-лімфоцитів у крові корів цієї групи відбувались за рахунок зменшення популяції клітин із низькою щільністю рецепторів ($p < 0,05$) і збільшення «нульових» Т-лімфоцитів ($p < 0,05$). Подібні зміни зафіксовано при дослідженні кількості ТЕ-РУЛ і антигензв'язуючих В-лімфоцитів крові. Проте різниці були вірогідними порівняно до контролю лише за кількістю ТЕ-РУЛ та ЕАС-РУЛ із низькою щільністю рецепторів ($p < 0,05$ – $0,001$).

При застосуванні мазі «Антимаст» у комплексі з масажем молочної залози у корів дослідної групи на 9-ту добу лікування спостерігали зростання кількості Т- і В-лімфоцитів у крові до рівня величин цього показника у клінічно здорових тварин. Зафіксовано збільшення недиференційованих ЕАС-РУЛ ($p < 0,05$ – $0,001$). При цьому, кількість Th-РУЛ і ЕАС-РУЛ з низькою щільністю рецепторів у крові корів дослідної групи була більша ($p < 0,05$), а «нульових» клітин менша ($p < 0,05$ – $0,001$), порівняно до контролю.

Відмічене на початку дослідження зниження фагоцитарного індексу ($p < 0,05$) та фагоцитарного числа поступово нормалізувалось і на 9-ту добу від початку лікування ці показники були на рівні контрольної групи. НСТ-тест на 3-тю добу суттєво знизився і на період закінчення лікування він був вірогідно нижчим, ніж перед його початком.

Застосування мазі «Антимаст» сприяло поступовому зростанню бактерицидної активності сироватки крові і на 9-ту добу від початку лікування цей показник був вірогідно вищим порівняно з періодом до лікування. Проходила нормалізація рівня лізоцимної активності сироватки крові та циркулюючих імунних комплексів.

Дослідження показали вищий вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові хворих корів порівняно з тваринами контрольної групи ($p < 0,05$). При проведенні лікування відмічено зниження вмісту продуктів ПОЛ у корів дослідної групи — на 9-ту добу від початку лікування вміст ТБК-активних продуктів та ГПЛ був нижчим.

Глутатіонпероксидазна активність у крові корів дослідної групи до лікування та на 3-тю добу експерименту була нижча, а на 9-ту добу вища, ніж у тварин контрольної групи. Аналогічні зміни спостерігали у корів дослідної групи й за вмістом відновленого глутатіону.

Вірогідно знижується вміст похідних окисної модифікації протеїнів у молоці хворих корів упродовж всього періоду досліджень порівняно з цими показниками на початку лікування.

Застосування для лікування корів, хворих на субклінічну форму маститу, мазі «Антимаст» призвело до значного зниження рівня соматичних клітин у секреті молочної залози корів дослідної групи ($p < 0,001$).

Терапевтична ефективність протимаститних препаратів на основі продуктів бджільництва була високою, з незначною перевагою апіфітопрепарату «Антимаст» введеного інтрацистернально (100 %), проти аналогічного показника при застосуванні мазі (86 %).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше отримано комплекс показників, що характеризують стан клітинної і гуморальної ланок імунітету, біохімічний профіль крові й секрету молочної залози у корів, хворих на субклінічну форму маститу та показано можливість застосування нових екологічно безпечних препаратів на основі апіпродуктів з метою корекції виявлених порушень. Доведено, що компоненти досліджуваного апіфітопрепарату «Антимаст» проявляють регуляторний вплив на активність ензимів антиоксидантного захисту, вміст продуктів ПОЛ і ОМП, впливають на кількість і функціональну активність імунокомпетентних клітин, показники неспецифічної резистентності організму та кількість соматичних клітин у молоці корів.

Практичне значення одержаних результатів. З'ясовано біохімічні та імунологічні зміни в організмі корів, хворих на субклінічну форму маститу, та за умов застосування емульсії й мазі «Антимаст», отриманих на основі апіпродуктів, що має практичне значення в лікуванні та профілактиці запальних процесів молочної залози.

На основі проведених досліджень запропоновано «Спосіб лікування маститів та корекції антиоксидантного захисту організму корів препаратом «Антимаст» (Деклараційний патент на корисну модель UA № 119004 від 11.09.2017 р.). Препарат пройшов апробацію у господарствах різних форм власності Львівської та Волинської областей і рекомендований до застосування.

Матеріали дисертаційної роботи використані при розробці методичних рекомендацій з питань профілактики і лікування субклінічної форми маститу у корів. У господарстві ПАФ «Білий Стік» Сокальського району Львівської області проведено впровадження та виробничу перевірку наукової розробки «Спосіб лікування корів із субклінічним запальним процесом молочної залози», а також застосовуються у навчальному процесі кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин ім. Г. В. Зверєвої Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького й Національного університету біоресурсів і природокористування України при викладанні навчальної дисципліни акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин.

Ключові слова: корови, субклінічний мастит, кров, молоко, соматичні клітини, система антиоксидантного захисту, імунний статус, апіфітопрепарати.

SUMMARY

Sobko G. V. — The immune and antioxidant systems' state of the body of cows, with subclinical form of mastitis, under the action of apis-phytic drug — The manuscript.

Thesis for the degree of candidate in veterinary sciences (Philosophy Doctor), specialty 03.00.04 — biochemistry. — Institute of Animal Biology, NAAS, Lviv, 2018.

The purpose is to study the biochemical aspects of immunobiological reactivity of the body of cows suffering from subclinical form of mastitis, and its changes in the process of treatment with apithiotics. Such drugs have antioxidant and immunomodulatory properties, which is especially relevant in the treatment and has a great scientific value and important practical value.

Experimental studies were conducted at the Institute of Animal Biology of NAAS during 2015–2017.

In the first experiment, the effect of intracisternal administration of the Antiamast therapeutic drug containing bee propolis, bees extract, beeswax, castor oil and vegetable oil on the activity of cellular and humoral immunity and the system of antioxidant protection. The purpose of the research was to study the biochemical aspects of the immunobiological reactivity of the cows suffering from subclinical mastitis, and changes of these parameters during treatment with apis-phytic drugs possessing antioxidant and of the body of cows with subclinical mastitis were studied.

The experiment performed on two groups of late lactation cows. In samples of whole milk, the concentration of somatic cells was determined by the viscometric express method on the analyzer "AMV 1-02". The control group — the number of somatic cells did not exceed 400 thou/cm³, the experimental group — the number of somatic cells ranged in 500 to 1 million thousand per 1 cm³. Affected udder quarters of experimental group was treated by intracisternal administration of one injection tube (13 ml) of the drug, three times at intervals of 24 hours. To the healthy quarters of udders a half the therapeutic dose used for prophylaxis action.

Blood samples for research was taken from the jugular vein in cows at 1st day (prior to the drug administration), at 3rd day of treatment and the 9th day after the treatments start. Samples of milk were taken in same time.

There were shown that subclinical mastitis in cows accompanied by a significant increasing of leukocyte count and a decrease in the total protein content in the blood compared to control animals. The intracisternal introduction of the Antimast contributed to a decrease in the total quantity of white blood cells, especially at the 9th day after the treatment onset and resulted in an increase in the total serum protein content.

The part of segmented neutrophils in the blood of cows with subclinical form of mastitis was significantly higher than that of control animals. Pronounced lymphopenia was noted prior to the administration of the drug and on the 3rd day of the study ($p < 0.01$; $p < 0.05$). The dynamics of the treatment revealed changes in the white blood cells count — a decrease in the segmented neutrophils level at the 9th day after the start of treatment ($p < 0.05$) and an increase in the total number of lymphocytes ($p < 0.01$).

In cows with mastitis, there was a decrease of active ($p < 0.01$) and theophylline-resistant T-lymphocytes ($p < 0.05$). Changes in the number of active rosetting T-lymphocytes and Th-lymphocytes in the blood of cows of this group occurs due to a decrease in the population of cells with low receptor density ($p < 0.01$) and an increase in functional differentiation of T-lymphocytes ($p < 0.01$). Similar changes were observed in the study of the amount of E-rosetting and antigen-binding B-lymphocytes in the blood. However, the differences were probable compared with control only for E-rosetting and EAC-rosetting lymphocytes with low-density of receptors.

In the cows of the experimental group, the count of T- (active and theophylline-resistant) and B-lymphocytes in blood was higher at the 9th day after the administration of the drug compared with the cows of control group ($p < 0.01$). At the same time, the number of Th-rosetting and EAC-rosetting with low density of

receptors in the blood of cows in the experimental group was higher ($p < 0.01$), while the functional cells differentiation was less ($p < 0.01$).

In cows suffering from the latent mastitis, a slight increase in phagocytic activity of neutrophil granulocytes was observed against the background of a possible decrease in the phagocytic index and an increase in the spontaneous NST-test. On the 3rd day after the introduction of the drug "Antimast", the value of the NST-test was 4.2 % higher than that of control group cows, but by the 9th day, this index had fallen to the level of reference values, and the differences were statistically reliability compared with the beginning of treatment.

Subclinical inflammatory process in the mammary gland of cows manifested by a decrease in the level of bactericidal and lysozyme activity of serum. Studies have revealed excessive antigen loading and accumulation of metabolites of inflammation in the body of sick cows, which is expressed in a significant increase in the circulating immune complexes level ($p < 0.01$). Bactericidal activity of blood serum increases in animals of the experimental group on the 9th day after intracisternal treatment ($p < 0.05$). The concentration of circulating immune complexes in the blood serum of experimental group animals on the 9th day was statistically significant decreased.

The content of TBARS in the plasma of diseased cows was 9.57 % higher on the first day of the experiment (prior to treatment) than in the control animals ($p < 0.05$).

Glutathione peroxidase activity and the content of reduced glutathione in red blood cells of cows suffering from subclinical mastitis were at the same level as in clinically healthy animals. At the same time, in the blood of cows of the experimental group compared with the control, on the 3rd and 9th day after the use of the drug, there was a tendency to increase the glutathione peroxidase activity and increase the content of reduced glutathione.

It was established that before the beginning of treatment in milk of animals with symptoms of mastitis the content of aldehyde and ketone derivatives was significantly higher than that in cows of control group. Using the drug caused a

decrease in the intensity of the oxidative processes, which was manifested with statistically significant reduction of aldehyde derivatives content in the milk of the experimental group cows at the 3rd and 9th day after the start of treatment. Similar changes were observed with regard to the content of ketone derivatives. At the 3rd and 9th days after the beginning of treatment, a tendency to increase the activity of superoxide dismutase in the milk of experimental group cows compared to the values at the beginning of the experiment were observed.

In the milk of the experimental group cows, there was a significant increase in the somatic cells count caused by subclinical mastitis ($p < 0.001$). At the 9th day after the start of treatment, their level was significantly lowered compared to the 1st day of the experiment.

In the second experiment, the immune status and antioxidant defense in cows suffering from subclinical mastitis after using of an “Antimast” ointment containing propolis, bees extract, beeswax, galipot, castor oil, camphor oil and vegetable oil (Patent No. AB-03772-01-12, 16.10.2012) was studied. The experiment was carried out with two groups of cows at the late lactation. The both groups of cows were formed as so as in previous experiment: control group — healthy animals, experimental group — with signs of subclinical mastitis. On the skin of udder of the experimental group cows was applied the “Antimast” once a day, after milking for 7 days.

The material for laboratory tests was sampled at the same periods as the previous experiment.

Morphological studies of peripheral blood cells showed a decrease in the number of leukocytes in the blood of cows at the 9th day of treatment, compared to the level found for 1st day ($p < 0.05$). The number of segmented neutrophils in the peripheral blood of cows in the experimental group was higher, and lymphocytes count were less before treatment and at the 3rd day of treatment ($p < 0.01$; $p < 0.05$). The use of Antimast ointment has contributed to a likely decrease in segmented neutrophils and an increase in lymphocytes at the 9th day after the start of treatment, compared to the 1st day of the experiment.

The analysis of the functional activity of E-rosetting lymphocytes showed a significantly greater number of undifferentiated cells and less amount of lymphocytes with low-avidity in cows suffering with a hidden form of mastitis, compared with the control group ($p < 0.001$). The use of investigated ointment reduced the number of “zero” E-rosetting lymphocytes on the 3rd and 9th day of the experiment ($p < 0.01$; $p < 0.001$). At the same time, there was an increase in the number of low-avidity lymphocytes at the 9th day after the start of treatment ($p < 0.01$).

Decreased number of T-active ($p < 0.05$ – 0.01) and theophylline-resistant ($p < 0.05$) T-lymphocytes was observed in the ill cows. According to the analysis of cells by the degree of differentiation, the change in the amount of active rosetting T-lymphocytes and Th-lymphocytes in the blood of cows in this group occurred due to a decrease in the population of cells with low density of receptors ($p < 0.05$) and an increase in “zero” T-lymphocytes ($p < 0.05$). Similar changes were observed in the study of the amount of E-rosetting cells and antigen-binding B-lymphocytes. However, the differences were probable compared with control only with the counts of E-rosetting and EAC-rosetting lymphocytes with low receptor density ($p < 0.05$ – 0.001).

After the application of the “Antimast”, ointment in combination with milk gland massage an increase in the numbers of T- and B-lymphocytes in the blood of experimental group of cows at the 9th day of treatment to the level of these parameters in clinically healthy animals were observed. An increase in undifferentiated EAC-rosetting ($p < 0.05$ – 0.001) was observed. At the same time, the number of T-rosetting and EAC-rosetting with low density of receptors in the blood of cows of the experimental group was higher ($p < 0.05$), and the “zero” cells were smaller ($p < 0.05$ – 0.001) compared to control.

The reduction of the phagocytic index ($p < 0.05$) and the phagocytic count, which was detected at the beginning of the experiment, was gradually normalized further, and at the 9th day after the start of treatment, these indices were at the level of control group. The NST-test for the 3rd day has significantly decreased and at the end of treatment, it was significantly lower than before its starting.

The use of Antimast ointment has led to a gradual increase in the bactericidal activity of serum, and on the 9th day after the start of treatment this parameter was significantly higher than before treatment. There was a normalization of the level of lysozyme activity of serum and circulating immune complexes.

Our researches showed higher content of lipid peroxidation products in the plasma of ill cows compared to animals of the control group ($p < 0.05$). In the course of treatment, decrease in the content of LPO in cows of the experimental group was noted — content of TBARS and LPO were lower at the 9th day after the start of treatment.

Glutathione peroxidase activity in the blood of cows of the experimental group before treatment and at the 3rd day of the experiment was lower, whereas on the 9th day it was higher than in the control animals. Similar changes in content of reduced glutathione were found.

The concentration of the proteins oxide modification derivatives in the milk of cows with mastitis were significantly decreasing throughout all study period compared with it at the start of treatment.

The application for treatment of cows suffering from subclinical form of mastitis ointment “Antimast” has led to a significant decrease in the level of somatic cells in the milk of cows of the experimental group ($p < 0.001$).

The therapeutic efficacy of investigated anti-mastitis drugs based on bee products are high, with an insignificant advantage of the apis-phytic drug “Antimast” for intracisternal use (100 %), compared with a similar medicine used as ointment (86 %).

Scientific novelty of the results. For the first time a complex of indices characterizing the state of the cellular and humoral immunity, biochemical composition of blood and mammary gland secrets in cows suffering from subclinical mastitis has been obtained. The possibility using new environmentally safe drugs based on bee-origin products with the purpose of correction of the revealed violations have been pointed. It is proved that the components of the investigated drug “Antimast” affect the activity of antioxidant defense enzymes, the content of lipid

peroxidation and proteins oxidative modification products, affects the count and functional activity of immunocompetent cells, indices of non-specific resistance and somatic cells count in cow milk.

The practical value of the results. The biochemical and immunological changes in the body of cows suffering from subclinical mastitis before and after treatment with emulsion or ointment “Antimast” containing bee products has been found out. The results are of importance for treatment and prevention of inflammatory processes in mammary gland.

Based on the researches “Method of treatment of mastitis and correction of antioxidant protection in cows by “Antimast”” (Declarative patent for utility model UA No. 119004 dated September 11, 2017) had been obtained. The drug tested on farms with different forms of ownership in Lviv and Volyn' regions and recommended for using.

The thesis has been used for methodological recommendations on prevention and treatment of subclinical mastitis in cows. Results of investigations applied for the educational process in the Stepan Gzhytskyj National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, and The National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine for learning the subjects of obstetrics, gynecology and biotechnology of reproduction of animals.

Key words: cows, subclinical mastitis, blood, milk, somatic cells, antioxidant system, immune status, apis-phytic drug.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковано основні наукові результати дисертації:

1. Куртяк Б. М., **Собко Г. В.**, Бойко О. П. Бактеріологічний моніторинг прихованих форм маститів — важлива складова у програмі профілактики маститів. *Науковий вісник Львівського НУВМБТ імені С. З. Гжицького*. Львів, 2015. Т. 17. № 2 (62). С. 281–287. (Дисертантка провела моніторинг, статистично опрацювала отримані дані, підготувала статтю до друку).

2. Вплив препарату «Антимаст» на стан системи антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу / **Г. В. Собко**, Н. А. Брода, О. І. Віщур, Б. М. Куртяк. *Науковий вісник Львівського НУВМБТ імені С. З. Гжицького*. Львів, 2016. Т. 18. № 1 (65). Ч. 1. С. 154–159. (Здобувачка брала участь у заборі крові для досліджень, провела визначення активності ензимів САЗ, опрацювала отримані дані, підготувала статтю до друку).

3. **Собко Г. В.** Показники фагоцитозу нейтрофільних гранулоцитів крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, та за дії препарату «Антимаст». *Науковий вісник Львівського НУВМБТ імені С. З. Гжицького*. Львів, 2016. Т. 18. № 3 (71). С. 244–247.

4. **Собко Г. В.** Вплив препарату «Антимаст» на стан Т- і В-клітинної ланок імунітету корів, хворих на субклінічну форму маститу. *Біологія тварин*. Львів, 2016. Т. 18. № 4. С. 86–92.

5. Effectivity of «Antimast» on blood antioxidant profile and lipid peroxides content in dairy cows with subclinical mastitis / I. Matiukha, O. Vishchur, N. Broda, D. Mudrak, **G. Sobko**. *The animal biology*. Lviv, 2018. V. 20. № 1. P. 60–

69. *(Здобувачка брала участь у визначенні показників пероксидного окиснення ліпідів, опрацювала результати та підготувала матеріали до друку).*

6. Собко Г. В. Гематологічні показники периферичної крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, за дії препарату «Антимаст» *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ та ІБТ ветпрепаратів та кормових добавок.* Львів, 2017. Вип. 18. № 2. С. 175–180.

Патент України на корисну модель

7. Спосіб лікування маститів та корекції антиоксидантного захисту організму корів: декл. пат. на корис. модель № 119004, Україна / Куртяк Б. М., Віщур О. І., Брода Н. А., **Собко Г. В.** № 119004; заявл. 20.02.2017; опубл. 11.09.2017, Бюл. № 17. *(Дисертантка брала участь у проведенні дослідів, оформленні патенту).*

Методичні рекомендації

8. **Собко Г. В.,** Куртяк Б. М., Островська Л. Л. Лікування та профілактика субклінічної форми маститу у корів за допомогою апіпрепарату – мазь (емульсія) «Антимаст»: методичні рекомендації, протокол № 3 від 18.04.2018 р. Львів: Львівський НУВМБ імені С. З. Гжицького 2018. 19 с. *(Дисертантка брала участь в аналізі літератури та опрацювала дані бактеріологічного моніторингу, брала участь в інтерпретації результатів та написанні рекомендацій).*

Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

Тези та матеріали конференцій:

9. **Собко Г. В.** Чутливість мікробних асоціацій та їх отриманих ізолятів з досліджуваних проб молока від корів, хворих на субклінічну форму маститу, до антибактеріальних препаратів. *Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини: матеріали XIII Всеукр. наук.-практ. конф. (м. Львів, 5–6 грудня 2016 р.).* Львів, 2016. С. 187.

10. Влияние препарата «Антимаст» на гуморальные факторы защиты организма коров больных субклинической формой мастита / **Г. В. Собко,**

Н. А. Брода, И. О. Матюха, Д. И. Мудрак *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: материалы XX междунар. науч.-практ. конф. (г. Горки, 1–2 июня 2017 г.)*. Горки, 2017. С 414–417. (Дисертантка провела визначення бактерицидної і лізоцимної активності сироватки крові, статистично опрацювала отримані дані, написала тези).

11. Процеси пероксидного окиснення та стан системи антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу / **Г. В. Собко**, Н. А. Брода, І. О. Матюха, І. Й. Матлах. *Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини : матеріали XVI Всеукр. наук.-практ. конф. (м. Львів, 8–9 грудня 2017)*. Львів, 2017. С. 148. (Дисертантка провела визначення продуктів ПОЛ і ОМП, статистично опрацювала отримані дані, брала участь у підготовці матеріалів до друку).

12. Вплив препарату «Антимаст» на лейкоцитарний профіль крові корів, хворих на субклінічну форму маститу / **Г. В. Собко**, Н. А. Брода, І. О. Матюха, Д. І. Мудрак. *Сучасні проблеми біології, екології та хімії: матеріали V міжнар. наук.-практ. конф. (м. Запоріжжя, 26-28 квітня 2017 р.)*. Запоріжжя: ТанDEM, 2017. С. 175–176. (Дисертантка провела визначення лейкограми крові, статистично опрацювала отримані дані, написала тези).

13. **Собко Г.**, Брода Н., Мудрак Д. Популяційний склад лімфоцитів крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, за дії апіфітопрепарату. *Аграрна наука та освіта Поділля : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (м. Кам'янець-Подільський, 14–16 березня 2017 р.)*. Кам'янець-Подільський, 2017. С. 361–363. (Дисертантка провела дослідження популяційного складу лімфоцитів, статистично опрацювала отримані дані, підготувала матеріали до друку).

14. Nonspecific resistance of cow's organisms with subclinical form of mastitis under the influence of drug «Antymast» / **G. Sobko**, I. Matiukha, N. Broda, O. Vishchur. *Nauki przyrodnicze we wspolczesnym swiecie. mater (Szczecin, 2 czerwca 2017 r.)*. Szczecin, 2017. P. 175–177. (Дисертантка провела визначення вмісту циркулюючих імунних комплексів у крові, опрацювала отримані дані).

15. **Собко Г. В.** Гематологічні показники периферичної крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, за дії препарату «Антимаст». *Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування: матеріали VII міжнар. наук.-практ. конф. (м. Львів, 4-6 жовтня 2017 р.).* Львів, 2017. С. 175–180.

16. **Собко Г. В.,** Матюха І. О., Брода Н. А. Стан неспецифічної ланки імунного захисту організму корів, хворих на субклінічну форму маститу, за дії апіфітопрепарату у формі мазі. *Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини: матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (м. Львів, 4-5 жовтня 2018 р.).* Львів, 2018. – С. 166. (Дисертантка провела дослідження бактерицидної і лізоцимної активності сироватки крові, статистично опрацювала отримані дані, підготувала матеріали до друку).

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	21
ВСТУП	22
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	28
1.1. Поширення різних форм маститу у корів і спричинені економічні збитки	28
1.2. Етіопатогенетичні особливості перебігу субклінічної форми маститу у корів	30
1.3. Процеси пероксидного окиснення ліпідів та стан системи антиоксидантного захисту у корів хворих на запальні процеси молочної залози	31
1.4. Імунобіологічна реактивність організму корів хворих на субклінічну форму маститу	34
1.5. Апіфітопрепарати — сучасні засоби профілактики і лікування корів, хворих на запальні процеси молочної залози	42
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	47
2.1. Методика та схема проведення досліджень	47
2.2. Методи визначення гематологічних показників	49
2.3. Методи визначення біохімічних показників крові	51
2.4. Методи визначення імунологічних показників крові	56
2.5. Методи дослідження молока	61
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	63
3.1. Поширеність та бактеріологічний моніторинг різних форм маститу	63
3.2. Вплив інтрацистернального введення апіфітопрепарату «Антимаст» на імунобіологічну реактивність та систему антиоксидантного захисту організму корів при субклінічному маститі	66
3.2.1. Гематологічний профіль і біохімічні показники у крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування препарату «Антимаст» у формі емульсії	66

3.2.2. Стан клітинної і гуморальної ланок імунної системи корів за умов субклінічної форми маститу та дії препарату «Антимаст»	73
3.2.3. Біохімічні показники молока корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов інтрацистернального введення препарату «Антимаст»	80
3.3. Стан імунного й антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування мазі «Антимаст»	84
3.3.1. Гематологічні та біохімічні показники крові у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування препарату «Антимаст» у формі мазі	84
3.3.2. Стан клітинної і гуморальної ланок імунної системи корів за умов субклінічної форми маститу та за дії мазі «Антимаст»	86
3.3.3. Біохімічні та імунологічні показники молока корів хворих на субклінічний мастит за умов застосування препарату «Антимаст» у вигляді мазі	93
3.4. Терапевтична ефективність лікування корів хворих на доклінічну форму маститу апіфітопрепаратами	96
РОЗДІЛ 4. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	98
ВИСНОВКИ	120
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ	122
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	123
ДОДАТКИ	174

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- СМ** – субклінічний мастит
- АОЗ** – антиоксидантний захист
- АФК** – активні форми кисню
- БАСК** – бактерицидна активність сироватки крові
- ВР** – вільні радикали
- ВГ** – відновлений глутатіон
- ГПЛ** – гідроперекиси ліпідів
- GSH** – глутатіон відновлений
- GSH-Px** – глутатіонпероксидаза
- ЛАСК** – лізоцимна активність сироватки крові
- ПОЛ** – пероксидне окиснення ліпідів
- РУЛ** – розеткоутворюючий лімфоцит
- РБТЛ** – реакція бласттрансформації лімфоцитів
- САЗ** – система антиоксидантного захисту
- ОМП** – окисна модифікація протеїнів
- ТА–РУЛ** – Т–лімфоцити активні
- ТЕ–РУЛ** – Т–лімфоцити загальні
- Th** – теофілінрезистентні лімфоцити (хелпери)
- Ts** – теофілінчутливі лімфоцити (супресори)
- ФА** – фагоцитарна активність
- ФІ** – фагоцитарний індекс
- ФЧ** – фагоцитарне число
- НСТ-тест** – тест з нітросинім тетразолієм
- ФГА** – фітогемаглютинін
- ЦІК** – циркулюючі імунні комплекси
- ІРІ** – імунорегуляторний індекс

ВСТУП

Актуальність теми. Мастити корів — глобальна проблема, яка завдає значних збитків молочному скотарству. Світова молочна промисловість втрачає через мастити щорічно близько 35 млрд доларів. За даними вітчизняних авторів, захворювання корів на мастит охоплює від 10 до 70 % стада, а 8–16 % корів хворіють двічі й більше впродовж лактації. Кількість корів, хворих на субклінічний мастит, у 3–5 разів перевищує кількість тварин із клінічними формами маститу (20 Вальчук О. А.; 163 Яблонський В. А., 2013).

У літературі наявна значна кількість наукових праць, присвячених вивченню етіології, патогенезу, профілактиці та лікуванню різних форм маститів у корів (155 Хомин С. П., Стефаник В. Ю., 2005; 163 Яблонський В. А., 2013). Також доведено, що важливими біохімічними маркерами розвитку маститу є підвищений рівень нітроген оксиду (365 366 Piotrowska-Tomala K. K. 2012, 2015; 385 Sadeghian T., 2018) та знижений вміст аскорбінової кислоти в сироватці крові тварин (306 Kleczkowski M., 2005). Оксидативний стрес, спричинений отеленням, ранньою лактацією, порушенням енергетичної цінності раціону, через надмірне накопичення реактивних форм кисню у тканинах молочної залози може призвести до виникнення запальних процесів (403 404 Sordillo L. M., 2016, 2018; 395 Shahid M., 2017). Водночас, залишаються недостатньо вивченими біохімічні механізми формування та регуляції імунобіологічної реактивності у корів, хворих на субклінічну форму маститу.

Вимоги до санітарної якості молока, що виключають наявність у ньому залишків антибіотиків, викликають необхідність у створенні екологічно безпечних препаратів і способів їх використання. За останні роки значно розширились наукові дослідження з пошуку нових ветеринарних препаратів, виникли нові підходи до оцінювання їх властивостей, практичної цінності (40 Івченко В. М., 2007; 131 Стегній Б. Т., Влізло В. В., 2013). Згідно з сучасними

вимогами екологічної безпеки вони мають бути високоефективними і водночас екологічно безпечними, а також сприяти профілактиці рецидивів захворювання та максимальному відновленню молочної продуктивності (92 Париков В. А., 2006). Особливе зацікавлення викликають засоби на основі апіфітопрепаратів, лікувальний ефект яких зумовлений наявністю в їх складі біологічно активних компонентів з продуктів бджільництва та рослинних вітамінно-мінеральних комплексів (90 Панич О. П., 2014; 48 Коваленко В. М., 2015; 23 Віщур О. І., Куртяк Б. М., 2016; 102 Постоєнко В. О., 2016).

Зважаючи на зазначене, наші дослідження були скеровані на вивчення біохімічного профілю крові та молока, показників імунобіологічної реактивності, системи антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування різних форм апіфітопрепарату «Антимаст».

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН на 2014–2018 рр. згідно з завданням 35.00.02.06. Ф «Вивчити біохімічні механізми формування та регуляції клітинного компартменту і гуморального імунітету у тварин за норми і патології» № держреєстрації 0116U001415, де авторка досліджувала стан антиоксидантної та імунної систем у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за дії нових екологічно безпечних препаратів на основі апіпродуктів.

Мета і завдання дослідження. Мета дисертаційної роботи полягала у з'ясуванні впливу різних форм апіфітопрепарату «Антимаст» на інтенсивність процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), стан системи антиоксидантного захисту (САЗ) та імунобіологічну реактивність організму корів, хворих на субклінічну форму маститу.

Для реалізації мети поставлено такі основні **завдання**:

— провести бактеріологічний моніторинг маститів у корів господарств Львівської області;

- вивчити вплив апіфітопрепарату «Антимаст» за умов інтрацистернального введення та у формі мазі на інтенсивність процесів ПОЛ, активність ензимів САЗ, гематологічний профіль, показники клітинної й гуморальної ланок імунітету у корів, хворих на субклінічну форму маститу;
- визначити вміст продуктів окисної модифікації протеїнів (ОМП), супероксиддисмутази й каталази активність і фізико-хімічні показники молока від корів, хворих на субклінічну форму маститу, та за умов застосування різних форм апіфітопрепарату «Антимаст»;
- з'ясувати ефективність лікування корів, хворих на субклінічну форму маститу, препаратами на основі апіпродуктів.

Об'єкт досліджень — запальні процеси молочної залози й активність імунної та антиоксидантної систем захисту у корів і способи їх корекції апіфітопрепаратами.

Предмет досліджень — біохімічний профіль крові та молока, показники клітинної і гуморальної ланок імунітету у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування різних форм апіфітопрепарату «Антимаст».

Методи досліджень — клінічні (оцінювання стану організму тварин), біохімічні (активність ензимів, вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів і протеїнів), гематологічні (кількість формених елементів, лейкоцитарна формула та вміст гемоглобіну), імунологічні (показники клітинної та гуморальної ланок імунної системи), мікробіологічні (визначення бактеріального і грибового забруднення), статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Стюдента).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше на основі проведеного комплексного порівняльного дослідження стану клітинної і гуморальної ланок імунітету, біохімічного профілю крові та секрету молочної залози у корів, хворих на субклінічну форму маститу, показано можливість застосування нових екологічно безпечних препаратів з бджолоїної сировини для корекції виявлених порушень. Доведено, що компоненти досліджуваного

апифітопрепарату «Антимаст», який застосовували у формі мазі й емульсії, оптимізують активність ензимів антиоксидантного захисту та вміст продуктів ПОЛ і ОМП у плазмі крові, позитивно впливають на кількість і функціональну активність імунокомпетентних клітин, показники неспецифічної резистентності організму та кількість соматичних клітин у молоці корів.

Розроблено й запатентовано спосіб лікування маститів і корекції антиоксидантного захисту організму корів препаратом «Антимаст», що містить прополіс, витяжку з підмору бджіл, віск бджолиний, олію рицинову (Деклараційний патент на корисну модель UA № 119004 від 11.09.2017 р.).

Практичне значення одержаних результатів. За умов застосування емульсії і мазі «Антимаст», отриманих на основі бджолиної сировини, з'ясовані біохімічні та імунологічні зміни в організмі корів, хворих на субклінічну форму маститу, що має практичне значення в лікуванні цього захворювання.

На основі одержаних результатів запропоновано «Спосіб лікування маститів та корекції антиоксидантного захисту організму корів препаратом «Антимаст» (Деклараційний патент на корисну модель № 119004 від 11.09.2017 р.), який апробовано у господарствах Львівської та Волинської областей і рекомендовано до застосування. Основні результати роботи впроваджено у навчальну програму при викладанні дисциплін: «Біохімія», «Акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення сільськогосподарських тварин з основами антрології» ОС «Магістр» Національного університету біоресурсів і природокористування України та Львівського національного університету ветеринарної медицини і біотехнологій імені С. З. Гжицького.

Особистий внесок здобувача. Здобувачка самостійно підбрала сучасну наукову літературу за темою дисертації й опрацювала первинні дані, провела науково-виробничі, експериментальні та лабораторні дослідження, здійснено статистичний аналіз, проаналізувала й узагальнила одержані результати. Планування досліджень, обговорення одержаних результатів, висновки та пропозиції виробництву здійснено за участю наукового керівника.

Апробація результатів дисертації. Матеріали та основні положення дисертаційної роботи доповідались на засіданнях вченої ради Інституту біології тварин НААН (Львів, 2016–2018); XIII всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (5–6 грудня, 2016, м. Львів,); XX международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства» (1–2 червня, 2017, г. Горки); XVI всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (8–9 грудня, 2017, Львів); V міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (26–28 квітня, 2017, Запоріжжя); міжнародній науково-практичній конференції «Аграрна наука та освіта Поділля» (14–16 березня, 2017, Кам'янець-Подільський); конференції «Nauki przyrodnicze we wspolczesnym swiecie» (2 czerwca, 2017, Szczecin, Poland); VII міжнародній науково-практичній конференції «Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування» (4–6 жовтня, 2017, Львів); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (4–5 жовтня, 2018, Львів).

Публікації результатів досліджень. Основні положення дисертаційної роботи й отримані результати досліджень опубліковані у 16 наукових працях, у тому числі 6 статтях у наукових фахових виданнях України, з них 5 – включені до міжнародних наукометричних баз даних, патент на корисну модель, методичні рекомендації, 8 тез у збірниках матеріалів наукових конференцій, з них 2 – тези в закордонному науковому виданні.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається з анотацій, вступу, огляду наукової літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел літератури, 6 додатків. Основний зміст роботи викладено на 176 сторінках комп'ютерного

тексту, що містить 30 таблиць і 1 рисунок на 25 сторінках. Список використаних джерел містить 438 найменувань, з них 272 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Поширення різних форм маститу у корів і спричинені економічні збитки

Мастити — це глобальна проблема молочного скотарства. За даними дослідників, у господарствах з різною формою власності на мастит хворіють до 50 % корів [7, 18, 132, 161, 188, 333]. Найбільший економічний збиток наносить субклінічна форма маститу через значні масштаби її поширення внаслідок відсутності візуальних ознак патології [8, 50, 282].

Розповсюдженню маститу сприяє незадовільний санітарний стан ферм, неповноцінна годівля тварин, недоліки в організації утримання корів, догляді за їх вименем, доборі тварин для машинного доїння, технології їх доїння, обслуговуванні доїльної апаратури [21; 40, 164].

Найбільший ризик виникнення маститу в корів виникає в період їх максимальної молочної продуктивності через підвищену мобілізацію фізіологічних процесів в організмі. За перебігом розрізняють гострий та хронічний мастити, за типом запалення: серозний, фібринозний, гнійний, гангренозний, абсцедуючий. За способом інфікування мастити поділяють на контагіозний (contagious) та середовищний (environmental) [222, 305]. Збудники контагіозного маститу передаються від корови до корови через доїльний апарат або інші контакти. Основні збудники: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma spp.*, *Brucella melitensis*. При середовищному маститі інфікування відбувається, головним чином, через підстилку та корми. Основні збудники: *Coliform (E. coli)*, *Pseudomonas spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Crynebacterium spp.* У сучасному молочному скотарстві гігієні вимені та доїльного устаткування приділяється велика увага, тому на даний час основний шлях інфікування молочної залози – через контакти з зовнішнім середовищем

[305, 369, 391, 405]. За зовнішніми ознаками мастит може перебігати у клінічній або субклінічній формі [282].

Саме субклінічна форма маститу спричиняє найбільш істотне зниження молочної продуктивності корів і санітарної якості молока [149, 188, 275, 309, 310, 347, 348, 398, 399]. Субклінічне запалення молочної залози має тісний зв'язок із клінічними формами цієї патології [171, 190, 203, 225, 244, 286, 288].

Бактеріальна мікрофлора, що бере участь у розвитку запального процесу, має свої біологічні особливості, зокрема, своєрідність властивостей патогенності [14, 327]. Основними представниками умовно-патогенної мікрофлори, що виділяється при маститах у корів, є золотистий стафілокок *Staphylococcus aureus* [66, 184, 235, 252, 254, 310, 346, 377, 387, 406, 437], агалактійний стрептокок *Streptococcus agalactiae* [367–368, 373–374, 431, 437–438], *Streptococcus uberis* [216, 300, 330, 331, 341–344, 346–347, 372–373, 410–414], колиформні бактерії *Escherichia coli* [204, 232, 255, 268, 273, 276, 298, 321–322, 327, 329, 434–435] та деякі інші, менш поширені, збудники маститу [175, 310, 312–314, 329–331, 349–350, 352, 379–380, 387–388, 395].

Частка маститів стрептококової етіології становить 30–50 % тварин хворих на мастити бактеріального походження [20; 64]. Стрептококи різних серологічних груп здатні викликати мастит у корів, основним збудником маститу є *S. agalactiae* (80 %).

Внаслідок масового поширення захворювань вимені серед корів молочне скотарство та переробна промисловість зазнають значних економічних збитків через зниження молочної продуктивності, погіршення якості молока й молочних продуктів [19, 92; 126; 198, 225, 227, 230, 354–355, 357, 359]. У такому молоці можуть бути виявлені бактеріальні ентеротоксини [218, 339, 240, 245]. Запалення молочної залози супроводжується збільшенням числа соматичних клітин і бактерій у молоці, обидва ці показники відіграють ключову роль у оцінці якості молока [6, 42, 148, 150, 171, 195–196, 274, 326–327, 408–409, 421–422]. Захворювання на мастит негативно впливає на репродуктивну функцію корів [203, 314–316, 422–423, 220, 244, 380–381].

1.2. Етіопатогенетичні особливості перебігу субклінічної форми маститу у корів

Субклінічну форму маститу слід розглядати як початок розвитку клінічної патології, коли відбуваються початкові зрушення в системі імунного захисту [171 190, 203, 225, 244, 286, 288, 359–360, 382–383, 385–386, 388–389].

Як і більшість запальних процесів, мастити супроводжуються лейкоцитозом, значно рідше, при запаленні вірусного походження — лейкопенією [260-261], у молоці хворих на мастити корів зростає кількість соматичних клітин (переважно лейкоцитів), хлоридів, підвищується лужність, щільність, бактеріальне забруднення, зменшується вміст жиру, лактози, знижується його бактерицидна активність [82, 195–196, 274, 326–327, 408–409, 421–422, 424–425].

Ці зміни, за затвердженням ряду дослідників [52], ведуть до зміни технологічних властивостей, поживності, біологічної цінності та смакових якостей молока. При використанні такого продукту збільшується захворюваність і загибель новонароджених телят, можливість розвитку алергічних реакцій і харчових отруєнь у людей.

При детальному вивченні причинності маститів було з'ясовано, що у корів субклінічні запальні процеси вим'я виникають на тлі недотримання періодичності доїння і несправності доїльного обладнання, що спричиняє неповному видоюванню та травматизації молочної залози, внаслідок підвищеного вакуумного тиску [26, 58, 61, 89, 118, 121, 275].

У серії досліджень встановлено, що найголовнішими факторами захворюваності на мастити корів є акушерські та гінекологічні захворювання і нагромадження в приміщеннях й на шкірі патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів [46, 51, 178, 222, 305, 317, 400].

Нерідко мастити у лактуючих корів виникають внаслідок переохолодження або, навпаки, у спекотливий період (понад 30°C) за наявності протягів у приміщеннях [178, 357, 382].

Неповноцінна годівля та незбалансованість раціонів корів супроводжуються сповільненням лактогенезу після отелення, та зниженням резистентності, як молочної залози, так і організму в цілому; підвищенням схильності до захворювань, зокрема, маститів [136, 140–141, 259, 275, 403].

Однією із причин виникнення маститів у корів можуть бути також відсутність або недостатня організація проведення генетичного добору тварин, придатних для машинного доїння [238, 266].

Виникнення та характер перебігу маститів залежить від функціонального стану молочної залози, рівня загальної та локальної неспецифічної резистентності корів [224, 416]. Як вже зазначалось, провідними етіологічними чинниками маститів є наявність у середовищі утримання корів патогенних мікроорганізмів, які своїми вірулентними та патогенними властивостями визначають характер прояву та перебіг запального процесу вимені [104, 180, 194, 223, 233].

1.3. Процеси пероксидного окиснення ліпідів та стан системи антиоксидантного захисту у корів хворих на запальні процеси молочної залози

Тканина молочної залози лактуючої корови часто перебуває в стані порушення гомеостазу, що може бути викликане, головним чином, післяпологовими ускладненнями та накопиченням вільних радикалів.

До реактивних форм кисню (РФК) належать супероксидний аніон (O_2^-), гідроксильний радикал ($OH\bullet$) та пероксид водню (H_2O_2) [393]. Реактивні форми кисню продукуються клітинами організму у процесі метаболізму і виконують важливі функції в обміні речовин. Надмірна їх концентрація призводить до руйнування та деструктивної модифікації компонентів клітин: ліпідів, протеїнів, нуклеїнових кислот, тобто викликає оксидативний стрес.

В умовах фізіологічного гомеостазу, РФК ефективно нейтралізуються механізмами клітинного захисту — ензиматичними (супероксиддисмутаза,

каталаза, глутатіонпероксидаза, гемоксидаза-1, редокс-протеїни) або неензиматичними (аскорбінова кислота, токоферол, каротиноїди, глутатіон, Селен) антиоксидантами [337, 241].

При підвищенні інтенсивності окисного стресу, що призводить до зниженої стійкості до вторгнення патогенних мікроорганізмів, збільшується ймовірність появи запальних процесів [338]. Окислювальний стрес є фактором, що спричиняє дисфункцію імунної системи організму і погіршує реакцію на запальні явища, що як наслідок призводить до численних захворювань корів, у тому числі й до запалення молочної залози, особливо в перинатальний період [185, 283, 395].

Специфічність окислювального стресу та його зв'язок з маститами та іншими захворюваннями різної етіології — складне питання, яке потребує детального вивчення. Одним із симптомів прояву маститу є підвищений рівень NO [193, 209, 221, 365–366, 372, 385] та знижений вміст аскорбінової кислоти в сироватці крові тварин [306; 370].

Фізіологічні рівні РФК володіють позитивною дією на імунні та запальні реакції у тканинах тварин [393]. Для оптимальної імунної та запальної реакції бажані незначні коливання стаціонарних концентрацій РФК, а високий їх вміст може призвести до пошкодження тканини та втрати нормальної функції клітин [293]. Показано, що саме антиоксидантні механізми є важливі у плані регулювання накопичення РФК в тканинах [338, 393].

Антиоксидантів захист завдяки детоксикаційним ферментним системам здатний сповільнювати або запобігати окисленню інших молекул [398]. Порушення балансу між продукцією РФК та захистом від антиоксидантів можуть призвести до значного пошкодження тканин внаслідок окислення клітинних ліпідів, білків та ДНК [404, 434]. Наприклад, мембранні фосфоліпіди особливо чутливі до перекисного окислення та подальшого утворення ліпідних радикалів. Внаслідок цього надлишок РФК накопичується і може призвести до втрати нормальної функції мембран і навіть загибелі клітин [404].

Природний баланс між формуванням РФК та захистом від антиоксидантів може бути порушений кількома чинниками, включаючи: захворювання, ожиріння, екологічний стрес, збільшення концентрації нестерифікованих жирних кислот в плазмі крові тварин [393]. Окисний стрес через надмірне накопичення РФК у тканинах молочної залози може привести до виникнення маститу [395]. Встановлено, що важливу роль в антиоксидантному захисті організму тварин відіграють вітамін Е та Селен [280, 302].

Kleczkowski та співавт. (2005) повідомили, що в порівнянні зі здоровими тваринами спостерігається значне зниження концентрації аскорбінової кислоти в сироватці крові та молоці корів з субклінічною формою маститу, пов'язане з інфекцією, що викликають *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus agalactiae* або *E. coli*. Більше того, в еритроцитах корів з маститом виявлений вищий рівень гідропероксидів ліпідів [370]. Зменшений вміст аскорбатів і підвищений вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів вказують на те, що існує зв'язок між маститом і окислювальним стресом.

Доведено, що отелення та рання лактація також призводять до збільшення інтенсивності пероксидації ліпідів [404]. Запальні процеси вимені корів супроводжуються накопиченням молекул NO, які викликають гостру або хронічну реакцію [193, 209, 221, 350, 365–366, 372, 398]. Wessely-Szonder та співавт. [2004] продемонстрували, що за умов маститів у корів продукується значна кількість NO та мієлопероксидазних ензимів, які разом можуть призвести до утворення нітротирозину, який має здатність до індукції розпаду протеїнів. У разі інфікування молочної залози патогенними мікроорганізмами поліморфноядерні клітини (ПМЯ) переносяться з крові на місця запалення у вимені, що, в свою чергу, збільшує кількість соматичних клітин молока [274].

Показано також, що особливо агресивну дію при запальних процесах виявляють токсичні форми Оксигену [193, 195, 209, 365, 372]. Серед факторів, що сприяють появі окиснювального стресу, найчастіше згадуються енергетична цінність раціону та фізіологічний стан корів [403]. Зважаючи на те, що існує тісна кореляція між окисним станом і маститом у корів, посилення

окислювальних процесів в організмі може вказувати на субклінічну форму запалення молочної залози.

Слід зазначити також, що процеси окиснення, які відбуваються в молоці, негативно впливають на його поживну цінність, органолептичні параметри, головним чином смакові, і викликають інактивацію багатьох біологічно активних речовин, що містяться в ньому [296]. У молоці корів, у яких діагновано мастити можна спостерігати зниження вмісту жиру, білка, казеїну та вмісту кальцію з одночасним збільшенням концентрації білків сироватки, Натрію і Хлору [300, 355, 359, 368]. Крім того, у молоці хворих маститами корів збільшується активність ферментів з групи ліпаз, протеаз, оксидаз, що виявляє негативний вплив на його технологічні властивості та якість молочних продуктів [198, 309].

У підсумку даного підрозділу варто зазначити, що зважаючи на тісний кореляційний зв'язок між перебігом субклінічних форм маститів у корів, вмістом соматичних клітин в молоці та інтенсивністю накопичення продуктів окиснення, важливою умовою отримання високоякісної молокопродукції та забезпечення здоров'я тварин є використання екологічно чистих терапевтичних засобів спрямованої дії, що здатні природно коригувати про-антиоксидантний баланс в організмі [133, 195–196, 409, 422].

1.4. Імунобіологічна реактивність організму корів хворих на субклінічну форму маститів

Вагому роль в етіології маститів корів відіграє порушення імунного гомеостазу. Недостатність механізмів локального та системного імунітету призводить до зниження природної опірності молочної залози [160, 197, 212, 224, 267, 294, 364]. При цьому мікроорганізми проникають через дієковий канал та легко долають механізми захисту, зумовлюючи в подальшому розвиток маститу [14–15, 64, 99].

Нині для лікування корів, хворих на мастит, запропоновано цілу низку препаратів, серед яких найбільшу частку становлять антибіотики [205, 231, 297, 323, 361, 371, 415, 421, 424, 430, 432]. Нераціональне та безсистемне використання останніх призвело до мутації мікроорганізмів і, як результат — виникнення резистентних штамів [169, 174, 186–187, 190, 219, 226, 269, 271, 307, 325, 339, 341, 348, 390, 407, 412, 417, 426, 438]. Враховуючи це у провідних лабораторіях світу постійно ведуться широкомасштабні пошуки нових лікарських засобів, які були б альтернативою антибіотикам і відповідали всім нормативним регламентам біоетики і біобезпеки [81, 182, 200, 208, 210, 217, 234, 242, 248, 256, 265, 313–315, 343, 345, 375, 402].

На даний час науковцями низки країн ведеться розробка вакцин проти маститів, що дало б змогу значно знизити витрати на лікування та профілактику. Проте широкий спектр мікрофлори, яка викликає це захворювання утруднює отримання достатньо ефективних препаратів [176, 215–216, 253, 285, 364].

Беручи до уваги те, що антибіотики можуть пригнічувати імунні реакції, руйнувати «біоплівки» в організмі [181, 191, 210, 257–258, 284, 289, 334, 406], спонукати алергію та дисбактеріоз, різко погіршувати екологічну ситуацію [410], ми провели ретельний пошук ефективної схеми терапії корів, хворих на субклінічні форми маститів, препаратом на основі натуральних апіпродуктів, який би вирізнявся своєю адекватністю, ефективністю, проявляв імунокорегуючий вплив, а також відповідав сучасним екологічним і ветеринарно-санітарним вимогам.

Особливості клітинного імунного захисту. Важливе значення у протимікробному імунітеті організму тварин відіграє фагоцитарна система захисту [168, 177, 206, 263, 326, 335, 378, 418, 420].

Як відомо, запальна реакція супроводжується розладами місцевого кровообігу з активною міграцією мікро- та макрофагів в зону патологічного процесу [32]. На початку запалення в активну протидію мікроорганізмам включаються нейтрофільні гранулоцити, які формують першу лінію захисту

[172, 192]. Нейтрофільні гранулоцити секретують цілу низку медіаторів запалення, а також екскретують у позаклітинний простір цілу низку бактерицидних речовин, що не тільки діють згубно на мікроорганізми, але й спричиняють деструктивні зміни паренхіми молочної залози [163, 177, 206, 263, 326, 335, 378]. Утворення великої кількості метаболітів запалення (і особливо прооксидантів) посилює не лише знищення мікробів, але й потенціює деструктивні процеси в різних тканинах організму [263, 378].

Надлишок нейтрофілів, макрофагів, клітин епітелію залозистої тканини, лімфоцитів та еозинофілів розпізнається як міра швидкості інфікування молочної залози мікроорганізмами, що викликають загальний запальний стан [283]. Крім того, в інфікованій молочній залозі рівень таких цитокінів, як TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 та інших молекул, таких як NO, збільшується [193, 209, 213, 221, 365–366, 372, 282, 385]. Отже, мастити — це патології, які не тільки знижують продуктивність корів, але і призводять до погіршення хімічного складу і якості молока [198, 227, 230, 355, 359]. У багатьох країнах вміст соматичних клітин розглядається як критерій гігієнічної якості молока та впливає на його вартість [171, 201, 207, 214, 262, 277, 279].

Тривале запалення молочної залози призводить до глибоких уражень паренхіми органу із подальшою регенерацією переважно за рахунок малодиференційованої сполучної тканини. Доведено, що у молоці здорових корів кількість поліморфоядерних нейтрофілів буває незначною (до 100 000 клітин/мл), проте із розвитком запального процесу їх популяція різко зростає [409, 195–196, 422]. На функціональний стан мікрофагів впливають патогенні властивості інфікуючого агента, характер ушкодження та прояву імунної відповіді. Останньо підтверджено, що нейтрофілоцити проявляють свою активність і в умовах *in vitro*, без наявності гуморальних факторів захисту, що робить цей фагоцитарний захист унікальним [32, 168, 326, 379, 418]. За нормергічної реактивності організму корів нейтрофільна реактивність швидко змінюється макрофагальною міграцією в зону патологічного процесу [192]. Останні повідомлення дослідників доводять, що макрофаги при цьому

фагоцитують та елімінують не лише мікроби, нейтрофіли та зруйновані інші клітинні елементи, а також метаболіти і медіатори запалення [163]. При цьому некроз нейтрофільних гранулоцитів проявляється розпадом загиблих клітин та вивільненням назовні лізосомальних ферментів [177, 206, 263, 326, 335, 420]. Масовий розпад нейтрофілів є також однією з причин переходу субклінічного запального процесу в клінічну форму із вираженими типовими ознаками запалення. Проведений аналіз феномену раннього апоптозу нейтрофільних гранулоцитів, дозволив зробити висновок, що раннє старіння, зниження реактивності та смерть фагоцитарних клітин також можуть бути однією з причин виникнення маститу [192].

Запуск фагоцитарної реакції ініціюється хемоатрактами (IL-8), компонентами комплементу *C5a*, *C3b*, *C3bi* [168, 282]. На мембранних структурах виявлені специфічні рецептори, які взаємодіють із відповідними рецепторними структурами нейтрофільних гранулоцитів [246, 379, 436]. Лімфоцити виробляють опсонізуючі антитіла, які посилюють фагоцитарну реакцію. Імунологічне розпізнання антигену в більшості випадків відбувається через IgG2 та IGM взаємодію Fab-локалізованих ділянок бактерій з Fc-рецептарами нейтрофілів [436].

У активізації метаболічної реактивності нейтрофілів молочної залози вагому роль відіграє система комплементу та опсоніни [192, 295]. Цитохімічна реактивність фагоцитарних клітин супроводжується зростанням споживання Оксигену через гексозомонофосфатний шунт та активізацію НАДФ-оксидази в результаті чого фагоцитарна клітина виробляє велику кількість активних форм Оксигену [193, 195, 209, 365, 372]. Проте, слід зазначити, що функціональна активність нейтрофільних гранулоцитів обмежується енергетичними запасами. Реакція гальмується внаслідок неможливості фагоцитарних клітин формувати псевдоподій і, за новітніми даними, також «викидати» захисні своєрідні сітки «пастки». Так, нейтрофільні гранулоцити також можуть утворювати у позаклітинному просторі волокна, які, переплітаючись, створюють «пастки-сітки» [168, 418]. Розшифрування генів мікроорганізмів показало, що деякі

мікробні штами здатні синтезувати дезоксирибонуклеазу, яка може руйнувати захисні «пастки» нейтрофільних гранулоцитів [135, 137–138, 143–144].

Останні дослідження довели, що лише 10 % нейтрофільних гранулоцитів секрету молочної залози із CR3-рецепторами нездатні проявляти адгезію, проте можуть активізуватися через опосередкований вплив з Fc-рецептором [246, 379].

За останніми даними (Желавський М. М., 2011) з віком тварин зменшується бактерицидний потенціал фагоцитів, їх міграційна активність та потенційна здатність до продукції активних форм Оксигену [31].

В період підйому лактаційної кривої ризик маститу зростає, що пов'язане із «метаболічним перенапруженням» в організмі та значними енергетичними затратами, які негативно позначаються на локальному імунному захисті молочної залози корів [33].

Висока продуктивність корів негативно позначається на обміні речовин та регенеративних процесах, в тому числі і в системі клітинного імунного захисту. Наявну імуносупресію в початковий період лактації більшість дослідників на пряму ув'язують із змінами білкового обміну, як наслідок імунної диспропорції та розвитку ензимопатій (порушення продукції АФО, біологічно активних речовин, цитокінів тощо), які в подальшому є причиною наростаючої імунної недостатності [34].

В каскаді імунологічних реакцій у молочній залозі важливе значення відіграють медіатори запалення – інтерлейкіни, лейкотрієни, простагландини, Ферум-цитратні комплекси та інші біологічно активні сполуки. Нещодавніми дослідженнями фізіологічної ролі gd T-лімфоцитів доведено їх протективну дію відносно лактоцитів альвеол [139].

Важливу роль у патогенезі маститу відіграють *натуральні кілери (НК)*, що містять Fc-рецептор і виконують активну цитостатичну дію навіть за недостатності головного комплексу гістосумісності [202, 318, 379].

Вже достатньо вивчено роль В-лімфоцитів секрету молочної залози. Встановлено, що при запальному процесі активовані Т-хелпери виступають

ефекторною ланкою в системі головного комплексу гістосумісності II. Вони також активізують утворення IL-2, який стимулює проліферацію В-клітин [33, 195].

Сприйнятливість молочної залози до інфікування залежить від періоду її функціонування. Найбільші ризики виникнення маститу проявляють себе в ранній період лактації та впродовж післяродового періоду [282, 363]. Встановлено, що зниження загальної імунобіологічної резистентності та локального захисту в сухостійний період корів робить їх сприйнятливими до виникнення маститу. Під час сухостою відбувається зниження функціональної активності лімфоцитів, синтезу антитіл, простагландинів та цитокінів [176, 363, 365]. В цей час проходять суттєві зміни в популяційному складі Т-лімфоцитів як у периферичному руслі, так і в паренхімі органу. Зменшення кількості CD4⁺-клітин супроводжується зменшенням рівня *IFN-γ* CD8⁺-лімфоцити при цьому проявляють імуносупресивну дію, що підтверджено імунологічним виявленням в цей період головного регулюючого цитокіну *IL-4 mRNA* [199].

Більшість учених схиляється до думки, що найбільша резистентність корів щодо інфікування молочної залози патогенними мікроорганізмами спостерігається на 3–4-му тижні сухостійного періоду, саме тоді, коли відбуваються глибокі морфофізіологічні зміни в паренхімі молочної залози. В цей період кількість фагоцитів у секреті молочної залози буває найбільшою [31, 47, 93]. В цей період різко зростає активність лактоферину [296]. Достеменно встановлено стійкість молочної залози до патогенних штамів до *E. coli* та *Staphylococcus aureus*, проте щодо стрептококової інфекції захист формується частково [44, 181, 184, 232].

Впродовж 2–4-го тижня після родів в організмі корів часто виникають метаболічні зрушення (кетоз), молочна лихоманка, зміщення сичуга, що ускладнюють інволюційні процеси [51].

Нині переглядається функція епітеліальних клітин молочної залози, їх роль в процесі запалення та імунній відповіді. За останніми даними, епітеліальні клітини молочної залози активно беруть участь в запальному процесі, вони

можуть також виділяти IL-8 та арахідонову кислоту, цитокіни, хемокіни і протимікробні пептиди [381–282, 365].

Зміни гуморальної ланки імунного захисту в патогенезі маститу. В процесі фагоцитарної реакції в паренхімі вим'я та його секреті зростає чисельність фагоцитів, які проте недостатньо секретують IL-1, що є також однією із передумов ризику розвитку маститу [363]. Фагоцитовані клітини в асоціації із головним комплексом гістосумісності II передають інформацію Т-лімфоцитам [142].

Ініціація запального процесу за впливу *E. coli* проходить із вивільненням мікробного ендотоксину ліпополісахаридного комплексу (*LPS-binding protein, LBP*), який вільно зв'язується із специфічним мембранним рецептором CD14 (mCD14) макрофагів та нейтрофілів. В подальшому відбувається активізація фактора некрозу пухлин (TNF α) []. Синтезовані цитокіни, інтерлейкіни та хемоатрактанти включаються в імунну реакцію [381–282, 365].

Важливу роль у формуванні гуморального захисту відіграють також *імуноглобуліни*, які потрапляють у молочну залозу із крові, а також ті, що синтезуються у паренхімі залози. Достатньо ґрунтовно вивчено участь у патогенезі маститу IgG2 та IgM, які здійснюють опсонізацію антигену та стимулюють фагоцитоз [363]. Задіяні антитіла знищують мікроби як за допомогою цитотоксинів, так за впливу C_{3b}. Активну участь в аглютинації та нейтралізації токсинів беруть IGA, нейтрофіли та макрофаги, які зв'язуючись із Fc-рецепторами, формують імунні комплекси (антитіла-антиген-C_{3b}-бактерії) [246, 378].

Бактерицидними властивостями також володіє *оксид азоту (iNOS)*, що виробляється макрофагами на початкових етапах запальної реакції. Взаємодіючи із Оксигеном і NOS, утворює сполуки *нітриту (NO₂)*, *нітрату (NO₃)* та *пероксинітрит*, який проявляє потужний ефект із суперокисним радикалом [30, 193, 195, 209, 365, 372]. Зазвичай концентрація NO в молозиві та в молоці в середині лактації буває незначною, проте в процесі запалення під

дією ліпополісахаридного комплексу (LPS) *E. coli*, особливо при асоційованому впливу її з *S. aureus*, його вміст різко зростає [221, 366].

Вагомим чинником у продукції NO є також стафілококовий ендотоксин та цитокіни (IFN- γ , TNF- α , NF- κ B, IL-1 β та ін.) [213, 351, 366–365, 429]. Вважають, що окис нітрогену, як медіатор активації арахідонової кислоти та утворення активних форм Оксигену також бере активну участь у каталізації 5-ліпоксигенази і утворення лейкотрієнів [366–365].

Регуляція запальної реакції молочної залози корів також здійснюється за участю лактоферину, вміст якого збільшується на початку патології із проявом субклінічної запальної реакції і тоді різко наростає (до рівня 5–6 мг/мл) до початку гострої фази маститу [296] і утримується високим до моменту міграції лейкоцитів в зону патологічного процесу. Проявляючи виражену бактерицидну дію та лізис ліпополісахаридного комплексу та ліпотехонової кислоти, лактоферин також інгібує запальні цитокіни моноцитів [381–282, 365, 296] і знижує реактивність нейтрофільних гранулоцитів, які мігрують в паренхіму молочної залози, а також сприяє захисту мікрофагів від руйнівних факторів [396–397].

Запальна реакція організму відбувається також за участю лізоциму, концентрація якого в коров'ячому молоці в 300 разів менша за його вміст у людському. Дослідженнями *in vitro* встановлено, що експериментальний мастит колі формного походження (*E. coli*) супроводжується активізацією лізоциму [351]. В патогенезі маститу також важливе місце відводиться лактопероксидаз-тіціан системі, яка ініціює секрецією перекису гідрогену та мієлопероксидази нейтрофілів [296].

Важливим гуморальним фактором, що регулює запальну реакцію, є також сироватковий амیلлоїд A (*serum amyloid A*, SAA), що має важливе діагностичне значення [199].

Складовою гуморального захисту молочної залози від патогенних чинників є понад 30 цитокінів. Дефіцит IL-2, IFN- γ , IFN- β , IFN- γ та зрушення взаємодії RBG-CSF є частою причиною недостатнього захисту молочної залози

на ґрунті недостатньої функціональної активності Т-клітин [213, 303, 351, 366–365, 429].

До найдревніших факторів імунного захисту організму тварин також належать *пептиди природного захисту*, якими є поліпептидні протимікробні сполуки, що складаються із 15–50 амінокислотних складових, основними джерелами утворення яких є поліморфоядерні нейтрофільні гранулоцити, моноцити, фіксовані макрофаги, тромбоцити та епітеліальні клітини [195–196, 354, 367, 414].

Важливим напрямом сучасної імунології є вивчення механізмів імунорегуляції на всіх рівнях її прояву. Встановлено тісні взаємозв'язки між факторами локального захисту молочної залози із системними імунними реакціями. Численними дослідженнями доведено, що підґрунтям виникнення маститу є імунологічна недостатність, що призводить до функціональних зрушень імунної регуляції в клітинних та гуморальних реакціях хворого організму. Актуальним залишається проблема вивчення апоптозу імунокомпетентних клітин, що є перспективним напрямом у розробці нових методів діагностики та терапії маститу [34, 274, 283, 395].

Отже, мастити корів є типовими факторними патологіями, ознаки яких залежать від прояву захисних сил організму тварини, вірулентних властивостей збудника, що в подальшому визначає перебіг запального процесу [197, 212, 294, 364]. Ці особливості необхідно враховувати при розробці методів ранньої діагностики маститів корів, оцінки адекватності та ефективності проведеного лікування.

1.5. Апіфітопрепарати — сучасні засоби профілактики і лікування корів, хворих на запальні процеси молочної залози

При субклінічному маститі динаміка розвитку запального процесу в тканинах молочної залози набуває повільного характеру, тобто не відбувається раптового спазму кровоносних і лімфатичних судин [301] із наступним повним

припиненням лактогенезу, а також припуханням і болючістю вим'я [204, 362]. Питання патогенезу субклінічної форми маститу у корів недостатньо висвітлено у фаховій літературі й потребує більш глибокого вивчення, тому, що такі запальні процеси найбільш поширені у молочному скотарстві [26, 79]. Відповідно, є очевидним той факт, що сучасні способи профілактики та лікування таких форм маститів в умовах сучасного вискотехнологічного та екологічно чистого спрямування у розвитку молочного скотарства потребують істотного вдосконалення [5, 8, 43, 56, 96, 110, 242, 292–293].

Лікування корів хворих маститом проводять комплексно з урахуванням перебігу запального процесу і використанням засобів і методів етіотропної, загальностимулюючої, патогенетичної та симптоматичної терапії, які направлені на звільнення молочної залози від ексудату, пригнічення мікрофлори, підвищення захисних сил організму, усунення болючості набряку тканин вимені, відновлення фізіологічної функції уражених четвертей [36, 39, 59, 67, 86, 94, 100, 105, 107, 204, 320, 362].

Слід зазначити, що при маститі уражається не тільки молочна залоза, а тварина в цілому. Тому лікування корів, хворих на мастит, спрямоване тільки на ліквідацію інфекційного процесу за допомогою антимікробних засобів, не може бути визнано науково обґрунтованим. З цієї точки зору найбільш прийнятною є комплексна терапія, спрямована, перш за все, на відновлення нормального фізіологічного стану, як молочної залози, так і організму в цілому. Застосування традиційної антибіотикотерапії має ряд загальновідомих негативних аспектів, одним з яких є зниження поживної та екологічної цінності молока [45, 57, 66, 78, 229, 313, 410].

В останні роки для лікування і профілактики маститів у корів використовують препарати, виготовлені на основі апіпродуктів і рослинної сировини [27, 35, 37, 113].

В опрацьованій вітчизняній літературі нами виявлено мало інформації про застосування апіфітопрепаратів у ветеринарії, тоді як зарубіжні дослідники активно працюють у цьому напрямку. У ветеринарній медицині застосування

апифітопрепаратів обмежене, хоча показники для застосування очевидні і є мережа ресурсів для впровадження у масове виробництво та застосування [15, 16, 291]. Використання апифітопрепаратів українського виробництва у ветеринарній медицині показало позитивні результати, а саме: підвищення опірності організму до інфекцій, анестезуючу, протизапальну і регенеративну дію, оптимізацію інтенсивності окисно-відновних процесів, рівня гематологічних показників, білкового і мінерального обмінів [17, 95, 108, 124].

Терапевтичний ефект апифітопрепаратів зумовлений наявністю у їх складі біологічно активних компонентів продуктів бджільництва (прополісу, бджолиного воску та витяжки з підмору бджіл), а також фітокомпонентів багатих комплексом цінних біологічно активних молекул (фітоестрогенів, вітамінів, мінеральних речовин, тощо) [90, 145].

Прополіс — це смолиста рослинна субстанція діяльності бджіл (*Apis mellifera* L.), багата на вміст поліфенолів [264, 281, 376, 433].

Застосування прополісу при маститах у корів виявляє виражений терапевтичний ефект як потужний антимікробний агент природнього походження [237, 349, 394]. Встановлено, що прополіс може пригнічувати ріст штамів деяких бактерій, що викликають мастит [237, 427].

Показано також, що прополіс володіє протизапальним ефектом, стимулює антиоксидантний захист у клітинах [240, 319, 408], виявляє імуномодуляторну дію [211, 236].

Бджолиний віск — це комплексний апіпродукт, який секретується спеціальними залозами молодих робочих бджіл. Чистий бджолиний віск майже білий, а після контакту з медом та пилком він приймає перемінно інтенсивний жовтуватий колір і стає коричневим приблизно через чотири роки [85].

Віск є складною сумішшю (більше 300 компонентів) серед яких гідрокарбонати (12–16% з переважанням ланцюгів довжиною C27–C33, в основному гептакозани, нонакозани, гентріаконтани, пентакозани і трікозани), вільні жирні кислоти (12–14%), ефіри жирних кислот та жирного спирту, дієтери та екзогенних речовини [250, 427].

Низкою досліджень встановлена антимікробна активність бджолиного воску. Він здатний пригнічувати ріст як Грам «+» так і Грам «-» мікроорганізмів [179, 336, 243]. Причому дія метанольного та етанольного екстракту дещо різниться, але в чому причина таких відмінностей не встановлено. Доведена синергічна дія прополісу і бджолиного воску, в комплексі вони показують відмінні бактерицидні, фунгіцидні та імуностимулюючі ефекти [237, 250, 427, 401].

Бджолиний віск виявляє антиоксидантні властивості [278].

Показано також лікувальну дію бджолиного підмору, яка обумовлена насамперед особливостями біохімічного складу зовнішнього скелета бджіл — кутикули, зокрема, хітину (ацетильований амінополісахарид). З цього з'єднання отримують хітозан. Це біологічно активна речовина сьогодні знаходить все більше і більше застосування. Хітозан є високоефективним радіопротектором, сорбентом токсинів і важких металів в організмі, володіє антимікробною дією. У ветеринарній [182, 205] та гуманній [173, 299, 258] медицині хітозан використовується як імуномодулятор та лікувально-профілактичний засіб. Встановлена можливість застосування хітозану для протекції та транспорту лікувальних засобів в організмі [170, 304].

У комплексі з хітином в кутикулі бджіл містяться гепарин і гепароїди. Вони здатні позитивно впливати на тонус судин, стабілізуючи кров'яний тиск, сприяють лікуванню запальних процесів. Вченими проводяться випробування застосування бджолиного підмору в якості добавки до кормових раціонів тварин, його використовують для виготовлення спиртових екстрактів, настоянок, порошків і т.д. Суха маса порошку підмору містить 54 % протеїну, 26 % жиру, 15 % екстрактивних речовин, 4,5 % золи, багато мікроелементів, зокрема, кальцію (7,8 г/кг), фосфору (9,3 г/кг), заліза (26 мг/кг), цинку (92 мг/кг), марганцю (67мг/кг), міді (20 мг/кг).

У екстрактах бджолиного підмору містяться воскоподібні речовини, вільні жирні кислоти, аскорбінова кислота, меланіни, комплекси гепарину та гепароїди. Хітозан бджолиного підмору розчинний у воді, він добре

екстрагується з підмору спиртом. Знижуючи рівень холестерину в крові, хітозан є ефективним засобом профілактики і лікування атеросклерозу судин і тісно пов'язаних з ним таких небезпечних для життя людини захворювань як інфаркт міокарда та інсульт. Крім того, хітозан гальмує процеси всмоктування радіонуклідів та важких металів з кишечника, покращує функціонування шлунково-кишкового тракту, мобілізує регенеративні процеси, прискорює загоєння опікових ран, підвищує загальну та імунну реактивність.

Встановлено, що використання фітопрепаратів при запальних процесах вимені корів володіє бактерицидною дією, нормалізує фізико-хімічні показники та вміст соматичних клітин в молоці.

Підсумовуючи наведену в даному підрозділі огляду інформацію слід зазначити, що комплексна дія та раціональне поєднання при запальних патологіях вимені корів апірослинних субстанцій у вигляді безпечних фармакологічних препаратів, дозволить посилити імунний захист та опірність організму у тварин, нормалізувати окисно-відновний баланс, посилити бактерицидну дію, покращити харчову і екологічну якість молока [156].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Методика та схема проведення досліджень

За темою дисертаційної роботи проведено два досліді.

Дослід 1. Вплив інтрацистернального введення апіфітопрепарату «Антимаст» на активність клітинного і гуморального імунітету та антиоксидантного захисту організму корів при субклінічному маститі.

СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ №1

ДП ДГ «Оброшине» Пустомитівського району Львівської області на двох групах корів (2–3 лактації) по 5–7 тварин у кожній	
КОНТРОЛЬНА ГРУПА (клінічно здорові тварини) — кількість соматичних клітин у молоці не перевищувала 400 тис./см ³	ДОСЛІДНА ГРУПА — кількість соматичних клітин у модоці знаходилась в межах від 500 тис. до 1 млн. у 1 см ³ (тварини із субклінічною формою маститу)
Для визначення ураженої чверті молочної залози застосовували 2 %-й водний розчин мастидину	
	<i>Інтрацистернально в уражені чверті вимені тричі з інтервалом 24 години вводили по одному шприцу-тубі (13 мл) препарату «Антимаст». У здорові чверті молочної залози профілактично вводили половину лікувальної дози.</i>
Кров у корів брали з яремної вени: — у клінічно здорових корів на 1-шу добу експерименту; — у корів з субклінічним маститом на 1-шу (перед введенням препарату), 3-тю і 9-ту доби експерименту.	

Дослід проведено у ДП ДГ «Оброшине» Пустомитівського району Львівської області на двох групах корів (2–3 лактації) по 5–7 тварин у кожній.

Усі тварини знаходились у другій фазі лактації. У пробах незбираного молока корів визначали концентрацію соматичних клітин віскозиметричним експрес-методом на аналізаторі «АМВ 1-02»: контрольна група — кількість соматичних клітин не перевищувала 400 тис./см³, дослідна група — кількість соматичних клітин знаходилась в межах від 500 тис. до 1 млн. у 1 см³. Для визначення ураженої чверті молочної залози застосовували 2%-й водний розчин мастидину. Коровам дослідної групи інтрацистернально в уражені чверті вимені тричі з інтервалом 24 години було введено по одному шприцу-тубі (13 мл) препарату «Антимаст». У здорові чверті молочної залози профілактично вводили половину лікувальної дози. Корови були переведені на ручне доїння.

Кров для проведення імунологічних досліджень брали з яремної вени у клінічно здорових корів на 1-шу добу експерименту, у корів з субклінічним маститом на 1-шу (перед введенням препарату), 3-тю і 9-ту доби експерименту. В аналогічні періоди відбирали зразки молока.

Дослід 2. Стан імунного й антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування мазі «Антимаст»

СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ №2

ТОВ «Молочні ріки»Бродівського району Львівської області на двох групах корів (2–3 лактації) по 5–7 тварин у кожній	
КОНТРОЛЬНА ГРУПА (клінічно здорові тварини) — кількість соматичних клітин у молоці не перевищувала 400 тис./см ³	ДОСЛІДНА ГРУПА — кількість соматичних клітин у молоці знаходилась в межах від 500 тис. до 1 млн. у 1 см ³ (тварини із субклінічною формою маститу)
Для визначення ураженої чверті молочної залози застосовували 2 %-й водний розчин мастидину	
	<i>один раз на добу впродовж 7 днів втирали в шкіру вимені мазь «Антимаст»</i>
Кров у корів брали з яремної вени: — у клінічно здорових корів на 1-шу добу експерименту; — у корів з субклінічним маститом на 1-шу (перед введенням препарату), 3-тю і 9-ту доби експерименту.	

Дослід проведено у ТОВ «Молочні ріки» Бродівського району Львівської області на двох групах корів (2–3 лактації) по 5–7 тварин у кожній. Корів обох груп аналогічно попередньому досліді діагностовано на субклінічні форми маститу: контрольна група — здорові тварини, дослідна група — з ознаками субклінічного маститу. Коровам дослідної групи після доїння один раз на добу впродовж 7 діб втирали в шкіру вимені мазь «Антимаст».

Матеріал для проведення лабораторних досліджень відбирали у періоди аналогічно попередньому експерименту.

Упродовж періоду досліджень проводили спостереження за клінічним станом корів, контроль стану молочної залози — огляд, пальпація, пробне здоювання. За тваринами дослідних груп спостерігали протягом шести місяців. Для контролю відновлення якості молока використовували аналізатор «АМВ 1-02» призначений для вимірювання умовної в'язкості незбираного молока та обчислення концентрації соматичних клітин у ньому [3].

2.2. Методи визначення гематологічних показників

Дослідження лейкоцитарної формули периферичної крові [62]. Дослідження лейкоцитарної формули проводили загальноприйнятим методом у фарбованих за Романовським-Гімза мазках крові під імерсійною системою мікроскопу, шляхом диференціального підрахунку 100 лейкоцитів.

Визначення кількості лейкоцитів [62]. Кількість лейкоцитів підраховували у сітці лічильної камери Горяєва. У пробірку вносили 0,4 мл 3 % розчину оцтової кислоти, пофарбовану метиленовою синькою (з підрахунку 1 мл 1 % водного розчину барвника на 100 мл оцтової кислоти) і 0,02 мл цільної крові за допомогою капілярної піпетки. Кількість лейкоцитів підраховували під мікроскопом, використовували збільшення (8 х, окуляр-10х) у 100 великих квадратах (1600 малих). Розрахунок проводили за формулою:

$$X = \frac{400 \cdot n}{1600}$$

де: X – кількість лейкоцитів в 1 мл крові;

A – кількість лейкоцитів, підрахованих у 100 великих квадратах;

1600 – кількість малих квадратів;

20 – розведення крові;

400 – множник, що приводить результат до об'єму 1 мкл крові, коли об'єм становить 1:400 мкл. Підраховану кількість лейкоцитів у 100 великих квадратах множили на 50.

Визначення кількості еритроцитів [62]. Кількість еритроцитів підраховували у камері Горяєва. Для підрахунку еритроцитів заповнювали кров'ю меланжер до мітки 0,5 і доводили фізіологічним розчином до мітки 101 (розведення у 200 разів). Скляною паличкою з пробірки брали 1-2 краплі розведеної крові і заповнювали ними камеру (починаючи з краю покривного скла). Еритроцити підраховували через 1 хв. Підрахунок числа еритроцитів проводили у 5 великих або 80 малих квадратах розміщених по діагоналі. Враховували еритроцити, які лежать у середині малого квадрату, а також на лівій та верхній лініях. Число еритроцитів у 1 мкл крові вираховували за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 4000}{80},$$

де:

X – кількість еритроцитів у 1 мкл крові;

a – кількість еритроцитів у 80 малих квадратах;

80 – кількість підрахованих малих квадратів;

200 – ступінь розведення крові;

4000 – множник, який приводить результат до об'єму 1 мкл крові.

Визначення концентрації гемоглобіну. Концентрацію гемоглобіну визначали геміглобінціанідним колориметричним методом [62]. У пробірку внесли 5 мл трансформуючого розчину та додали 20 мкл цільної крові. Пробірку старанно перемішали та залишили при кімнатній температурі на 30 хвилин.

Оптичну густина отриманого розчину визначали на спектрофотометрі при 540 нм проти трансформуючого розчину. Обчислення концентрації гемоглобіну проводили за формулою:

$$Hb = \frac{E_{540} \cdot 64,458 \cdot 251}{44},$$

де:

E_{540} – оптична густина зразка, що досліджувався;

64,458 – мілімолярна маса гемоглобіну;

251 – розведення крові;

44 – мілімолярний коефіцієнт екстинції геміглобінціаніду.

2.3. Методи визначення біохімічних показників крові

Дослідження концентрації загального протеїну. Концентрацію загального протеїну у сироватці крові визначали спектрофотометрично за методом О. Н. Lowry [332]. Суть методу полягає в утворенні кольорових продуктів у результаті реакції ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна-Чекальтеу в поєднанні з біуретовою реакцією.

До 0,4 мл розчину, який містить білок додавали 2 мл робочого розчину, до складу якого входили: 10 % розчин Na_2CO_3 в 0,5 мл NaOH і 0,5 % розчин $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, перемішували і через 10 хвилин додавали 0,2 мл реактиву Фоліна-Чекальтеу. Вмістиме пробірок перемішували і через 30 хвилин колориметрували при довжині хвилі 750 нм. Концентрацію білка у зразках крові визначали за калібрувальним графіком.

Дослідження глутатіонпероксидазної активності в еритроцитах крові. Активність глутатіонпероксидази (ГПО) визначали за методом В. М. Моина [77]. Суть методу полягає у реакції з 5,5-дітіобіс-2-нітробензойною кислотою (ДТНБК) з утворенням кольорового продукту тіонітрофенільного аніону (ТНФА). Кількість останнього відповідає кількості SH-груп, які прореагували з ДТНБК.

Для визначення глутатіонпероксидазної активності 0,2 мл досліджуваної рідини інкубували на водяній бані при 37°C 10 хв з 0,85 мл 4,8 мМ розчину відновленого глутатіону (GSH), який був приготовлений на буфері 0,1 М трис-НCl рН 8,5, що містив 6 мМ EDTA і 12 мМ розчин азиду натрію. Потім додавали 0,05 мл 20 мМ розчину гідропероксиду третинного бутилу та інкубували 5 хвилин. Реакцію зупиняли додаванням 0,4 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти. Проби центрифугували 10 хвилин при 7 тис об/хв. Потім 0,1 мл супернатанту вносили 5 мл 0,1 М розчину трис-НCl рН 8,5 і додавали 0,1 мл реактиву Елмана. Через 5 хв визначали оптичну густину проб на спектрофотометрі при $\lambda=412$ нм проти H_2O . Активність ферменту виражали в мкмоль GSH/мг білка за 1 хвилину і вираховували за формулою:

$$A = \frac{E_K - E_D}{E_{CT} \times V \times t \times B} \times 4,08 \times P, \text{ де}$$

A – активність ГПО в мкмоль GSH/мг білка за 1 хв;

E_K – екстинція контрольного зразка, в який вносили воду, а не гідропероксид третинного бутилу;

E_D – екстинція дослідного зразка;

E_{CT} – екстинція стандартного зразка, в який вносили воду, а не дослідну рідину;

V – об'єм зразка, мл;

t – час інкубації, хв.;

B – кількість білка, мг/мл досліджуваної рідини;

P – розведення.

Визначення каталазної активності в сироватці крові. Принцип методу базується на здатності пероксиду водню утворювати з солями молібдату стійкий кольоровий комплекс [54].

До 0,1 мл досліджуваної сироватки крові додавали 2 мл H_2O_2 , в холостій пробі додавали 0,1 мл дистильованої води. Після 10 хв проведення реакції додаємо 1 мл 4 % молібдату амонію, і через 5 хв в пробірку вносили 0,5 мл 30 % ТХО. Інтенсивність забарвлення досліджуємо, вимірюючи її на

спектрофотометрії при $\lambda=410$ нм проти зразка, де додавали дистильовану воду. Результати визначали за формулою:

$$A = \frac{E_{хол} - E_d}{t \times V \times K \times B} \times P, \text{ де}$$

A – активність КАТ в ммоль H_2O_2 /мг білка за 1 хв;

$E_{хол}$ – екстинція холостого зразка;

E_d – екстинція дослідного зразка;

V – об'єм зразка, мл;

t – час інкубації, хв;

K – коефіцієнт мілімолярної екстинції пероксиду водню, який дорівнює $22,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$;

B – кількість білка, мг/мл досліджуваної рідини;

P – розведення.

Визначення супероксиддисмутази активності в крові [29].

Розведення крові : 0,1 мл крові + 0,90 мл H_2O

0,1 мл реактиву (а) довести до 10 мл дистильованою водою

0,001 мл крові — 10 мл H_2O (це на 200 проб)

Хід визначення

Контроль	Дослід
1мл реактиву С	
2,4 мл H_2O	1 мл реактиву С
0,1 мл крові (1: 1000) або	2,3 мл H_2O
0,1 мл гомогенату (1: 1000)	0,1 мл дистильованої води

0,1 мл кверцетину додавали у момент вимірювання, дуже швидко перемішували і знімали показники СФ. Таким чином буде отримано значення екстинції у нульовий момент часу (E_0). Через 20 хв вимірювали повторно для отримання значення E_{20} «0» виставляємо по контролю без кверцетину

$$A_{СОД} = (D_1 - D_2 / D_1 \cdot 100\%) \cdot 29,49 \text{ Од} \cdot \text{окт} / \text{мг} \cdot \text{хв}, \text{ де}$$

$$D_1 = E_{к0} - E_{к20};$$

$$D_2 = E_{д0} - E_{д20}, \text{ де}$$

Д1— зміна оптичної густини за 20 хв в контролі

Д2— зміна оптичної густини за 20 хв у досліді

Визначення рівня відновленого глутатіону в еритроцитах [12].

Визначення концентрації відновленого глутатіону проводила за методом Э. Батлер та ін. Дослідний зразок: гемолізат еритроцитів (1:10), осаджуючий реактив — 3 мл. Контрольний зразок: осаджуючий реактив — 3 мл, дистильована вода — 3 мл; витримувала 5 хвилин при кімнатній температурі, потім центрифугували при 3500 об/хв, після чого відфільтровували надосадову рідину (отримують безбілковий фільтрат–центрифугат).

Дослідний зразок: центрифугат — 2 мл; 0,3 М розчин Na_2HPO_4 — 8 мл, реактив Елмана — 0,1 мл. Контрольний зразок: 0,3 М розчин Na_2HPO_4 — 8 мл, реактив Елмана — 0,1 мл. Через 5 хвилин досліджують дослідний і контрольний зразки при довжині хвилі 412 нм. Розрахунок кількості відновленого глутатіону в еритроцитах проводять за допомогою калібрувальної кривої.

Визначення вмісту гідроперекисів ліпідів у плазмі крові. Вміст гідроперекисів у плазмі крові визначали за методом, описаним В. В. Мирончиком [4]. Принцип базується на спектрофотометричному вимірюванні оптичної густини продуктів реакції з тіоціанатом амонію, сіллю Мора і соляною кислотою, після попередньої екстракції ліпідів досліджуваних проб етанолом (спирт–плазма — 13:1).

Для цього, брала 0,2 мл плазми, яка містила 0,5 мг/мл оксалату натрію в 0,05 М тріс-НСІ буферному розчині рН 7,4, поміщали у центрифужну пробірку, додавали 2,8 мл етанолу і 0,05 мл 50 %-ного розчину трихлороцтової кислоти. Утворений білковий осад відділяли центрифугуванням протягом 10 хвилин при 3000 об/хв. Одержаний супернатант являє собою етанольний екстракт ліпідів. Його використовували як об'єкт для визначення вмісту гідроперекисів ліпідів.

У супернатанті визначали вміст гідроперекисів шляхом додавання до нього етанолу, концентрованої соляної кислоти, 1 %-ного розчину солі Мора і

20%-ного розчину тіоціанату амонію. Вимірювання оптичної густини проводили протягом 10 хвилин після додавання тіоціанату амонію на спектрофотометрі «Spekol 220» при довжині хвилі 480 нм.

Дослідження ТБК-активних продуктів — малонового діальдегіду в плазмі крові. Концентрацію малонового діальдегіду (МДА) у плазмі крові корів визначали за методом Коробейникової С. Н. (1989) [53]. В основі методу лежить реакція між МДА і тіобарбітуровою кислотою, що за умов високої температури і кислих значень рН, веде до утворення триметилового комплексу. Останній містить одну молекулу МДА і дві молекули ТБК. У ході визначення до 0,5 мл плазми крові додавали 5,0 мл 20%-ний розчин фосфорновольфрамової кислоти, пробірки щільно закривали і витримували на холоді 15 хвилин, після чого центрифугували при 3000 об./хв. протягом 15 хвилин. Надосадову рідину зливали, до осаду додавали 1,0 мл 0,8 %-ного розчину тіобарбітурової кислоти, після чого проводили інкубацію протягом однієї години на водяній бані при температурі 100° С. За цих умов малоновий діальдегід реагує з тіобарбітуровою кислотою з утворенням триметилового кольорового комплексу. Після цього пробірки охолоджували і центрифугували протягом 10 хвилин при 5000 об./хв. Оптичну густину вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі 535 і 580 нм. Дворазове вимірювання оптичної густини дозволяє виключити поглинання забарвлених комплексів тіобарбітурової кислоти з речовинами неліпідної природи. Концентрацію МДА визначали використовуючи коефіцієнт молярної екстинції 0,156 мкМ/ см і виражали її в нмоль/мл (або од.).

Вміст альдегідних і кетонових похідних окисної модифікації протеїнів (ОМП). Рівень інтенсивності окисної деструкції протеїнів оцінювали за реакцією одержаних карбонільних похідних амінокислотної реакції з динітрофенілгіدразином, як описано у Levine R. L. et al. (1990) [324]. Вміст карбонілів розраховували за вимірюванням оптичного поглинання при 370 нм та 430 нм з урахуванням коефіцієнту поглинання $22000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Карбонільні групи визначали спектрофотометрично за різницею поглинання при 370 нм (альдегідні похідні, OMP_{370}) та 430 нм (кетонові похідні, OMP_{430}). У ході

визначення після додавання до 0,1 мл сироватки 0,9 мл ТХО і 1 мл 2,4 динітрофенілгідразину проводили інкубацію при кімнатній температурі і центрифугували 45 хв при 3000 об/хв. Далі суміш промивали сумішшю етанол-ацетат 3 рази. Після додавання сечовини і нагрівання 5 хв на киплячій водяній бані проводили вимірювання при вказаних довжинах хвилі. Концентрацію альдегідних і кетонів похідних окисної модифікації протеїнів виражали в нмоль/мг білка.

2.4. Методи визначення імунологічних показників крові

Визначення фагоцитарної активності нейтрофілів. Визначення фагоцитарної активності крові проводили за методикою Гостева В.С. [62]. Як тест-мікроб використовували інактивовану добову культуру лабораторного штаму *E. coli* (штам 1033 F 41, S-форма МПА). Фагоцитарну реакцію нейтрофілів оцінювали за фагоцитарною активністю (ФА), числом (ФЧ) та індексом фагоцитозу (ІФ).

З цією метою, 0,2 мл гепаринізованої крові вносили у пробірку і мікропіпеткою додавали стандартизовану до 2 млрд/мл емульсію добової культури *E. coli*. Вміст пробірок добре збовтували і ставили на водяну баню при температурі 37°C на 30 хвилин. Потім готували мазки на предметних скельцях, висушували їх на повітрі і фарбували за методом Романовського-Гімзи. У кожному мазку підраховували 100 нейтрофілів. Для повної характеристики фагоцитозу визначали фагоцитарну активність — за кількістю активних лейкоцитів із 100 підрахованих і виражали у відсотках. Фагоцитарний індекс — за кількістю фагоцитованих мікробних тіл, яка припадає на один активний нейтрофіл і характеризує поглинаючу здатність фагоцитів. Фагоцитарне число — кількість фагоцитованих мікробних тіл на 100 підрахованих нейтрофілів. Фагоцитарне число (ФЧ) і фагоцитарний індекс (ФІ) вираховували за формулами:

$$\Phi I = \text{к-сть фагот-х мікроорганізмів} / \Phi A_2$$

$$\Phi Ч = \text{к-сть фагот-х мікроорганізмів} / 100.$$

Дослідження лізоцимної активності сироватки крові. Визначення лізоцимної активності у сироватці крові проводили нефелометричним методом за Дорофейчуком В. Г., 1968 [28]. Для цього з добової культури *Micrococcus Lysodeikticus* (штам ВКМ-109) вирощеної на скошеному агарі готували наважку на фосфатному буфері (рН 7,2–7,4), яку стандартизували на ФЕКу при використанні зеленого світлофільтра в кюветах з робочою довжиною 3 мм (довжина хвилі $\lambda=540$ нм). При нефелометрії вихідної зависі світлопроникнення повинно становити 20 % (0,46–0,50 од. опт. густини). До 1,47 мл приготовленого мікробного змиву культури *Micrococcus Lysodeikticus* додали 0,03 мл досліджуваної сироватки крові, пробірку струсили і витримали в термостаті за температури 37 С, впродовж години. Після повторного струшування провели нефелометрію. Показники реєстрували по шкалі світлопроникнення правого барабану. Відсоток активності лізоциму визначали по числових показниках. Для цього відсоток світлопроникнення вихідної мікробної зависі (20 %) вираховували з відсотка світлопроникнення наважки, що досліджувалась.

Визначення циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові [62]. Цей метод ґрунтується на преципітації великих глобулярних імунних комплексів, що знаходяться у сироватці крові високомолекулярним поліетиленгліколем (ПЕГ-6000). Для визначення готували 0,1 М боратний буфер (рН 8,4) та розчин ПЕГ шляхом розчинення в 240 мл цього буферу 10 г сухого ПЕГ. Змішували 0,15 мл сироватки крові з 0,3 мл боратного буферу, суміш розливали мікропіпеткою у дві пробірки по 0,2 мл. В першу пробірку (контроль) додавали 1,8 мл розчину ПЕГ, а в другу (дослід) — 1,8 боратного буферу. Контрольні і дослідні пробірки інкубували в термостаті протягом 60 хвилин. Після інкубації визначали величину екстинції на спектрофотометрі при довжині хвилі 450 нм. Результати досліджень подавали в мМоль/мл, показник екстинції множили на 100.

Дослідження бактерицидної активності сироватки крові.

Бактерицидну активність сироватки крові оцінювали фотонейфометричним кюветним методом за Марковим Ю.М., 1968 [71]. У якості тест-мікробу використовували слабо патогенний штам кишкової палички *E. coli*. Спочатку готували добову бульйонну культуру *E. coli*. Для цього з добової агарової культури даного тест-мікробу бактерії змивали стерильним фізіологічним розчином, отриманий змив стандартизували за оптичним стандартом до 2 млрд. мікробних тіл в 1 мл. Після чого робили посів бактеріологічною петлею на м'ясо-пептонний бульйон (МП). Після посіву пробірки поміщали в термостат при температурі 37–38°C на 24 години.

У якості поживного середовища при визначенні бактерицидної активності крові використовували бульйон Хоттінгера, що містив 200 мг% амінного азоту. Досліджувані сироватки зберігали при температурі 2–4°C і досліджували не пізніше 20–24 годин після взяття крові.

При дослідженні бактерицидної активності в стерильні кювети з робочою довжиною 10 мм заливали по 4,5 мл бульйону Хоттінгера і додавали по 0,5 мл досліджуваної сироватки крові (дослідна кювета). У кожную дослідну кювету вносили по одній бактеріологічній петлі добової бульйонної культури *E. coli*. У контрольні кювети вносили ті ж компоненти, що і у дослідні, але замість сироватки додавали 0,5 мл фізіологічного розчину. Оптичну густину середовища в дослідних і контрольних кюветах визначали за допомогою ФЕК-56. Після цього пробірки поміщали в термостат при температурі 37 °C. Повторне визначення оптичної густини проводили через 3, 5, 7, 9, 12 та 24 години. На основі даних оптичної густини вмісту дослідних і контрольних кювет визначали динаміку бактерицидної активності сироватки крові, відповідно вказаним проміжкам часу, а також повний бактерицидний ефект, що виражається одним значенням — середньою напруженістю бактерицидної активності (НБА).

Розрахунки робили наступним чином. Спочатку за формулою 2.2 визначали бактерицидну активність сироватки крові через прийняті проміжки

часу:

$$A=100 \frac{D \text{ дослідне через } t \text{ годин} - D \text{ дослідне зразу}}{D \text{ контрольне через } t \text{ годин} - D \text{ контрольне зразу}} \cdot 100 \quad 2.2$$

де,

A — бактерицидна активність в %;

D — дослідна густина;

t — час експозиції кювет в термостаті в годинах.

Потім визначали середню напруженість бактерицидної активності (НБА) за формулою 2.3:

$$\text{Середня НБА} = \frac{A_n \cdot T_n}{T_n} = \frac{A_1 T_1 + A_2 T_2 + A_3 T_3 \dots A_n T_n}{T_n = T_1 + T_2 + T_3 + \dots T_n} \quad 2.3$$

де,

середня НБА — середня напруженість бактерицидної активності сироватки крові (в %);

T₁, T₂, T₃... T_n — тривалість термостатування в годинах.

Визначення кількості Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у крові.

Визначення кількості Т-лімфоцитів проводили за методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Е-РУК) Jondal M. et al. (1972) [287]. Принцип методу полягає в тому, що при відповідних умовах чужорідні еритроцити барана приєднуються до лімфоцитів і утворюють так звані розетки, де в центрі знаходиться лімфоцит, а по периферії еритроцити.

Хід визначення:

Готували градієнт густини фікол-верографіну. У мірний циліндр відважили 9,5 г фіколу, розчинили його теплою дистильованою водою в кількості 100 мл, додали 20 мл верографіну 60 % концентрації. Відносну густину вимірювали за допомогою ареометра (1,077).

У якості маркерів для приготування індикаторної системи використовували еритроцити дефібринованої крові барана, відмиті фізіологічним розчином шляхом центрифугування їх при 1000 об/хв протягом 10 хвилин. З осаду еритроцитів готували 0,5 % суспензію еритроцитів барана

для загальних Т-лімфоцитів і 0,1 % суспензію еритроцитів – для активних Т-лімфоцитів.

Мононуклеарну фракцію виділяли з гепаринізованої крові. Кров розводили буферним фізрозчином (рН 7,3) у співвідношенні 1:3.

Визначення відносної кількості загальних Т-лімфоцитів (ТЕ-РУЛ) проводили за допомогою методу спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана. Мікроскопію мазків проводили під імерсією при збільшенні 90 х 7. За Т-розеткоутворюючі лімфоцити приймали клітини, які приєднали до себе не менше трьох еритроцитів барана. При цьому розрізняли їх за кількістю приєднаних еритроцитів: нульові які не приєднали еритроцити, малодиференційовані, які приєднали від 3 до 5 еритроцитів барана, середньої авідності, які приєднали від 6 до 10, а більше 10 еритроцитів барана – високодиференційовані лімфоцити.

Метод визначення теофілінрезистентних Т-хелперів ґрунтується на тому, що ці клітини несуть на своїй поверхні рецептори до імуноглобулінів класу М, а Т-супресори - до імуноглобулінів G. Хелперними вважають лімфоцити, які здатні формувати розетки після їх інкубації з теофіліном — це теофілінрезистентні клітини.

Число Т-клітин з супресорною активністю (Ts-РУЛ) вираховували шляхом віднімання загального числа теофілін-резистентних Т-клітин від загальної кількості Т-лімфоцитів.

Дослідження відносної кількості В-лімфоцитів. Метод ідентифікації В-лімфоцитів ґрунтується на наявності в них мембранних імуноглобулінових рецепторів, що забезпечує приєднання до В-лімфоцитів індикаторних клітин, котрі на своїй поверхні містять комплемент-антиген-комплекс (ЕАС-РУЛ). У якості індикаторних клітин використовували еритроцити барана, сенсibilізовані антитілами і комплементом. Для приготування комплемент-антиген-комплексу використовували готову рідку гемолітичну сироватку (титр 1:1200) та готовий сухий комплемент морської свинки.

З метою отримання ЕАС-розеток на В-лімфоцитах, до 0,1 мл чистої суспензії лімфоцитів додавали 0,1 мл 1 % суміші еритроцитів барана, котрі містять на своїй поверхні комплекс імуноглобулін антитіло-комплемента. Суміш інкубували у термостаті протягом 7 хвилин при температурі 37 С, центрифугували при 1000 об/хв і ставили у холодильник на одну годину, після чого фіксували 0,3 % розчином глутарового альдегіду. Зупиняли фіксацію додаванням 0,4 мл дистильованої води, потім центрифугували 5 хвилин при 1000 об/хв, відбирали надосад, осад ресуспендували і робили мазок на предметному склі. Мікроскопію мазків проводили аналогічно.

2.5. Методи дослідження молока

Визначення хімічного складу молока. У молоці корів визначали: густину, вміст жиру, лактози, білка та СЗМЗ на апараті «ЕКОМІLK TOTAL».

Визначення кількості соматичних клітин в молоці проводили на аналізаторі молока АМВ-1-02.

Принцип методу. Для визначення концентрації соматичних клітин у молоці використовують препарат “Мастопрім”(який додавали для збільшення в'язкості). Після введення в колбу суміші препарату “Мастопрім” з молоком і включення мотор – редуктора блок перемішування починає коливання в межах кута 111°. Після закінчення процесу змішування відкривається клапан і досліджувана проба пропускається через капіляр. Залежно від часу витікання проби через капіляр колби процесор визначає концентрацію соматичних клітин у молоці.

Супероксиддисмутазну активність (СОД), вміст продуктів ОМП визначали за методиками, використаними для дослідження крові з попереднім знежиренням зразків молока за допомогою центрифугування (3000 об/хв. 20 хв, двічі).

Отримані результати досліджень опрацьовано методом варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента. Обчислювали середні

арифметичні значення (M), похибки середніх значень ($\pm m$) та вірогідність різниці між середніми величинами (p). Різницю між двома середніми величинами вважали вірогідною за $p < 0,05$. Для математичної обробки даних використано стандартний пакет комп'ютерних статистичних програм Origin 6.0, Excel (Microsoft, USA).

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Поширеність та бактеріологічний моніторинг різних форм маститу

Після постановки мети та основних завдань дослідження на початковому етапі експериментальної роботи було проведено аналіз поширеності маститів у господарствах Львівської області (табл. 3.1). Отримані дані високого показника поширеності патології молочної залози ще раз підтвердили доцільність обраної мети роботи та практичну значимість результатів.

Ми встановили, що від 6,6 до 15,2 % корів у колективних господарствах Львівської області утримуються з ознаками тої чи іншої форми маститу. При цьому корови із субклінічним маститом становили 60,3–91,3 % від усіх корів із діагностованим маститом, у решти було виявлено клінічні форми захворювання

Таблиця 3.1

Поширеність різних форм маститів у корів господарств різних форм власності Львівської області за період 2014–2017 років

Район	Обстежено корів, гол.	Кількість хворих корів					
		всього		із них			
		гол.	%	клінічні форми маститу		субклінічні форми маститу	
1	2	3	4	5	6	7	8
Бродівський	1638	132	8,1	34	25,8	98	74,2
Буський	719	75	10,4	15	20,0	60	80,0
Городоцький	1022	67	6,6	8	11,9	59	88,1
Дрогобицький	569	41	7,2	6	14,6	35	85,4

1	2	3	4	5	6	7	8
Жидачівський	1129	172	15,2	41	23,8	131	76,2
Жовківський	1718	143	8,3	51	35,7	92	64,3
Золочівський	1587	122	7,7	24	19,7	98	80,3
Кам.-Бузький	2024	192	9,5	29	15,1	163	84,9
Миколаївський	771	89	11,5	26	29,2	63	70,8
Мостиський	851	102	12,0	35	34,3	67	65,7
Пустомитівський	946	94	9,9	14	14,9	80	85,1
Радехівський	2876	292	10,2	73	25,0	219	75,0
Самбірський	2332	252	10,8	22	8,7	230	91,3
Сколівський	549	68	12,4	27	39,7	41	60,3
Сокальський	2547	369	14,5	53	14,4	316	85,6
Ст.Самбірський	1862	194	10,4	65	33,5	129	66,5
Стрийський	494	67	13,6	18	26,9	49	73,1
Турківський	1324	153	11,6	35	22,9	118	77,1
Яворівський	927	87	9,4	21	24,1	66	75,9
Всього	25885	2711	10,5	597	22,0	2114	78,0

Якісний аналіз показників мікрофлори молока включав дослідження: цукролітичних і гемолітичних властивостей, утворення ферментів декарбоксилаз, оксидаз, каталази, плазмокоагулази, перетворення нітратів у нітриту, тощо. Для цього проводили пересів на секлективні середовища (сольовий агар, агар Ендо, строкатий ряд Гісса), а підтвердження ідентифікації проводили за допомогою специфічних сироваток. Результати проведених досліджень наведено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

**Структура якісних показників мікрофлори проб молока
від хворих корів, (n=4)**

Назва мікроорганізма	Проба			
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4
1	2	3	4	5
<i>St. epidermidis</i>	$1,2 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$
1	2	3	4	5
<i>St. aureus</i>	$2,0 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	—
<i>Enter. fecalis</i>	—	—	$1,4 \times 10^3$	$3,2 \times 10^2$
1	2	3	4	5
<i>E. coli</i>	$1,6 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$1,8 \times 10^2$	—
<i>Str. uberis</i>	$1,4 \times 10^2$	$3,1 \times 10^2$	—	$1,1 \times 10^2$
<i>Lactobacillus spp.</i>	—	$1,5 \times 10^4$	$2,2 \times 10^3$	—
<i>Candida</i>	—	—	$1,2 \times 10^2$	—

У результаті проведених досліджень було виділено 105 штамів мікроорганізмів. Характер їх розподілу по групах відображено на рисунку 3.1.

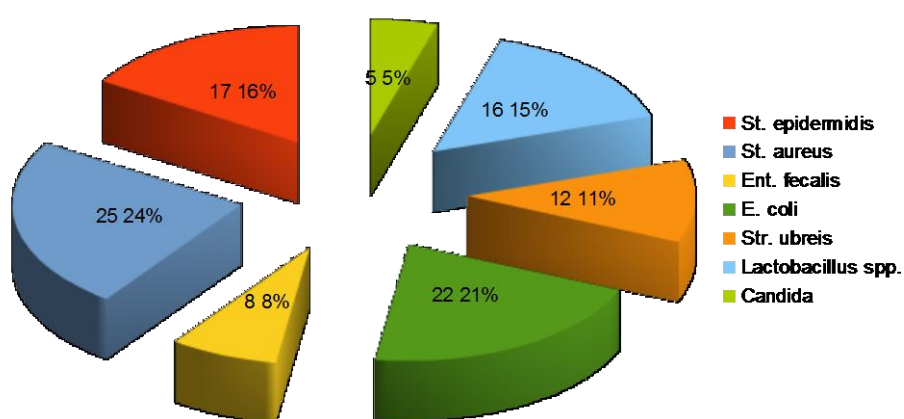


Рис 3.1. Видовий склад мікроорганізмів, виділених із молока корів хворих на мастит.

Із загального числа культур бактерій, виділених із проб молока від корів, хворих на клінічний і субклінічний мастит було виділено 25 штамів *S. aureus*,

що склало 23,8 % від загальної кількості виділених мікроорганізмів, *S. epidermidis* (16 %) та *E. coli* (21 %). На решту мікроорганізмів припадало: *Lactobacillus spp.* — 16 штамів (15,2%), *Str. uberis* — 12 штамів (11,4%), *Enter. fecalis* — 8 штамів (7,6 %) та грибів роду *Candida spp.* — 5 культур, що склало 4,7 % відповідно [129].

3.2. Вплив інтрацистернального введення апіфітопрепарату «Антимаст» на імунобіологічну реактивність та систему антиоксидантного захисту організму корів при субклінічному маститі

3.2.1. Гематологічний профіль і біохімічні показники у крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування препарату «Антимаст» у формі емульсії. Сучасна гуманна і ветеринарна медицина, імунологія володіє низкою методів, які дозволяють глибше розкривати особливості функціонування імунної системи, взаємодії її окремих ланок, що є важливим в діагностиці, лікуванні та профілактиці окремих видів патології репродуктивної системи.

Імунобіологічна реактивність організму тварин, як вище підкреслювалось, не лише підпорядкована чітким механізмам генетичної та нейроендокринної регуляції, а й постійно змінюється впродовж всього онтогенетичного розвитку на всіх етапах відтворної функції. Прояв імунних реакцій має свої індивідуальні особливості та чітко залежить від умов утримання, годівлі та експлуатації тварин.

Серйозною проблемою в багатьох господарствах України є неповноцінна годівля, догляд та експлуатація тварин, які негативно позначаються не лише на їх відтворній здатності, а й є однією із причин зниження їх молочної продуктивності та провідним фактором виникнення маститу.

Враховуючи сказане, першочерговою метою даного етапу досліджень було вивчити імунобіологічну реактивність організму корів, її зміни по періодах функціонування молочної залози і особливо в патогенезі маститу.

При оцінці функціонального стану імунної системи тварин важливе значення має дослідження морфологічних показників крові. З одержаних даних бачимо, що захворювання корів на субклінічну форму маститу призводить до зростання кількості лейкоцитів і зниження вмісту загального протеїну у крові. Так, кількість лейкоцитів у корів дослідної групи до введення і на 3-тю добу після введення досліджуваного препарату була відповідно на 41,4 ($p<0,01$) і 32,9 % ($p<0,05$) більша, ніж у клінічно здорових тварин. Інтрацистернальне введення препарату «Антимаст» викликало зменшення загальної кількості лейкоцитів, особливо на 9-ту добу експерименту (табл. 3.3).

Як видно з даних таблиці, у хворих корів до введення препарату вміст загального протеїну у сироватці крові був на 16,4 % менший ($p<0,01$), ніж у корів контрольної групи. На 3-тю і 9-ту доби від початку введення препарату у корів дослідної групи вміст загального протеїну був менший, ніж у контролі, проте різниці були невірогідні.

Таблиця 3.3

Гематологічні та біохімічні показники крові корів (Мт; n=5)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
Еритроцити, Т/л	5,32±0,12	5,20±0,12	5,66±0,41	5,56±0,23
Гемоглобін, г/л	103,32±1,59	99,94±1,72	100,45±2,11	104,28±1,82
Лейкоцити, Г/л	7,0±0,42	9,9±0,71**	9,3±0,86*	7,5±0,50°
Загальний білок, г/л	77,38±2,53	64,72±2,48**	70,24±0,47	74,56±2,57

Примітка. У цій таблиці та наступних таблицях: ° – $p<0,05$, °° – $p<0,01$, °°° – $p<0,001$ — вірогідність у тварин даної групи порівняно до введення препарату (1-ої доби експерименту); * – $p<0,05$, ** – $p<0,01$, *** – $p<0,001$ — різниця вірогідна порівняно до контрольної групи.

Кількість еритроцитів у крові корів дослідної групи підвищується на 3-тю і 9-ту доби експерименту, у порівнянні з тваринами контрольної групи та стосовно величини даного показника у тварин дослідної групи до введення препарату на 8,8 % і 6,9 % відповідно. Вміст гемоглобіну у тварин дослідної групи на 3-тю і 9-ту доби експерименту має тенденцію до зростання у порівнянні із здоровими тваринами.

Підрахунок співвідношення окремих форм лейкоцитів (табл. 3.4) у крові показав, що при субклінічному маститі у корів частка сегментоядерних нейтрофілів була вірогідно більшою, ніж у тварин контрольної групи. Відмічено яскраво виражену лімфопенію — до введення препарату та на 3-тю добу досліджень, кількість лімфоцитів периферичної крові корів дослідної групи була меншою у порівнянні із здоровими тваринами ($p < 0,01$; $p < 0,05$).

Таблиця 3.4

Лейкоцитарний профіль крові корів (Mm; n=5)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
Базофіли, %	1,33±0,33	1,33±0,33	1,0±0,00	1,33±0,33
Еозинофіли, %	5,2±0,86	6,0±0,89	5,4±0,68	5,2±0,58
Паличкоядерні нейтрофіли, %	4,6±0,40	6,2±0,86	5,2±0,66	4,8±0,66
Сегментоядерні нейтрофіли, %	28,6±1,08	35,6±1,83*	33,0±1,82	29,8±1,69°
Лімфоцити, %	56,4±1,44	46,2±1,80**	50,8±1,56*	54,8±1,59°°
Моноцити, %	4,4±0,68	5,2±0,58	5,2±0,37	4,6±0,68

Встановлено зміни показників лейкоцитарної формули, в основному за рахунок сегментоядерних нейтрофілів — з 35,6±1,83 до 29,8±1,69 на 9-ту добу

експерименту ($p < 0,05$). Кількість лімфоцитів, як найбільш лабільна частина клітин крові, також динамічно змінювались в процесі лікування — наприкінці дослідного періоду їх кількість становила $54,8 \pm 1,59$ проти $46,2 \pm 1,80$ до введення препарату ($p < 0,01$). Це свідчить про згасання запального процесу.

Утворення ТБК-активних продуктів у результаті розриву ланцюгів поліненасичених жирних кислот обумовленого вільними радикалами, одне із негативних наслідків пероксидного окиснення ліпідів. Проведені дослідження показали, що захворювання корів на субклінічну форму маститу призводить до підвищення інтенсивності процесів ПОЛ (табл. 3.5). Про це свідчить зростання рівня продуктів ПОЛ у плазмі крові корів, хворих на субклінічну форму маститу, порівняно із клінічно здоровими тваринами [128].

Таблиця 3.5

Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові корів
($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
ТБК-активні продукти, мкмоль/л	$6,90 \pm 0,20$	$7,56 \pm 0,18^*$	$6,91 \pm 0,23$	$6,54 \pm 0,10^{**}$
Гідроперекиси ліпідів, од. Е/мл	$1,60 \pm 0,09$	$1,67 \pm 0,05$	$1,55 \pm 0,06$	$1,34 \pm 0,07^{**}$

Зокрема, вміст ТБК-активних продуктів, які є кінцевими продуктами ПОЛ, у плазмі крові хворих корів на 1-шу добу експерименту (до введення препарату) був на 9,57 % ($p < 0,05$) більший, ніж у тварин контрольної групи. Триразове інтрацистернальне введення коровам в уражені чверті молочної залози препарату «Антимаст» спричиняло зниження ($p < 0,01$) вмісту ТБК-

активних продуктів і гідроперекисів ліпідів у плазмі крові, особливо на 9-ту добу після введення, порівняно із рівнем, зафіксованим на 1-шу добу експерименту. При цьому необхідно зазначити, що вміст ТБК-активних продуктів і гідроперекисів ліпідів у плазмі крові хворих корів на 3-тю добу був на рівні їх вмісту у клінічно здорових тварин. Що стосується вмісту відновленого глутатіону він залишався практично на одному рівні впродовж всього експерименту і не виходив за середні фізіологічні норми.

Надмірне утворення активних форм кисню при дії різних чинників, зокрема, стресу, введення препаратів, фізіологічні зміни в організмі (в тому числі запліднення та вагітність) може індукувати також й зміни в білкових структурах клітини. Ініціація ОМП є найбільш небезпечною ланкою ушкодження клітин, яка зумовлює інактивацію цитоплазматичних ферментів та мембранних іонних pomp з поступовим впровадженням різноманітних механізмів апоптозу клітин.

Як показали проведені дослідження вміст альдегідних та кетонівих похідних окисної модифікації протеїнів до початку введення препарату був вищим у хворих тварин, але вже на 3-тю добу експерименту спостерігалось зниження цих перокисних продуктів, особливо ОМП₃₇₀ (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Вміст альдегідних (ОМП₃₇₀) та кетонівих (ОМП₄₃₀) похідних окисної модифікації протеїнів та активність супероксиддисмутази у сироватці корів (нмоль/мгбілка) ($M \pm m$, $n=5$)

Досліджувані показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
ОМП ₃₇₀	13,76±0,90	15,78±0,96	6,85±1,25 ^{***°°°}	10,21±0,87 ^{**°°°}
ОМП ₄₃₀	21,80±0,49	26,21±0,89 ^{**}	19,61±1,05 ^{°°°}	20,30±0,53 ^{°°°}

Вміст як альдегідних, так і кетонів похідних окисної модифікації протеїнів, вірогідно знижувався в динаміці лікування, що є важливим діагностичним показником нормалізації інтенсивності окисдаційних процесів і підтверджує ефективність досліджуваного препарату. Так, вміст альдегідних похідних ОМП₃₇₀ у крові корів дослідної групи на 3-тю та 9-ту доби експерименту був відповідно на 57,6 ($p<0,001$) та 36,3 % ($p<0,01$) менший, ніж до введення препарату. Аналогічні зміни спостерігали щодо рівня кетонів похідних. Зокрема, на 3-тю добу експерименту, вміст ОМП₄₃₀ знизився на 25,2 %, а на 9-ту — на 22,5 % порівняно із значенням цього показника у крові хворих тварин, до введення досліджуваного препарату ($p<0,001$).

З наведених у таблиці даних бачимо, що ГП-активність у плазмі і вміст відновленого глутатіону в еритроцитах крові корів, хворих на субклінічну форму маститу була на рівні клінічно здорових тварин (табл. 3.7). Водночас, у крові корів дослідної групи, порівняно до контрольної на 3-тю і 9-ту доби експерименту зафіксовано тенденцію до підвищення глутатіонпероксидазної активності та збільшення вмісту відновленого глутатіону.

Таблиця 3.7

Глутатіонпероксидазна активність та вміст відновленого глутатіону у крові корів ($M\pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
ГП-акт. в еритроцитах, Нм GSH/хв на 1 мг протеїну	22,65 $\pm$ 1,29	21,85 $\pm$ 0,80	23,83 $\pm$ 0,80	25,81 $\pm$ 1,10°
Відновлений глутатіон в еритроцитах, мкМ/мл	0,42 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,01	0,42 $\pm$ 0,01	0,44 $\pm$ 0,02

Що стосується активності супероксиддисмутази (табл. 3.8), то було відзначено її вірогідно низьке значення перед початком введення препарату у

хворих тварин $18,46 \pm 0,36$ (од.акт./мг білка) порівняно до показника здорових корів $22,19 \pm 0,59$ (од.акт./мг білка) ($p < 0,001$). Інтрацистернальне введення хворим коровам дослідного препарату підвищувало рівень активності ензиму на 3-тю добу від початку лікування, а на 9-ту добу спостерігалось статистично вірогідне зростання на 25,0 % активності СОД порівняно з показником на початку експерименту.

Таблиця 3.8

Активність антиоксидантних ензимів у крові корів ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
СОД в еритроцитах, ум. од. акт./мг протеїну	$22,19 \pm 0,59$	$18,46 \pm 0,36^{***}$	$20,16 \pm 0,73$	$23,15 \pm 0,89^{ooo}$
Каталаза, мкмоль/хв·мг протеїну	$65,21 \pm 1,19$	$54,44 \pm 1,34^{***}$	$62,18 \pm 2,01^{\circ}$	$68,24 \pm 1,23^{ooo}$

Зважаючи на тісну кореляцію між супероксиддисмутазою та каталазою, наступним було дослідження активності останньої. Оскільки СОД каталізує реакцію в результаті якої утворюється субстрат для наступного етапу знешкодження РФК на який діє каталаза, очевидно є залежність активності цих ензимів.

У крові корів із діагностованим субклінічним маститом спостерігалось вірогідне зниження активності каталази до $54,44 \pm 1,34$ (мкмоль/хв·мг білка) порівняно із цим показником у крові здорових тварин $65,21 \pm 1,19$ (мкмоль/хв·мг білка). Введення препарату багатого біологічно активними компонентами вже на третю добу експерименту вірогідно підвищувало активність каталази у крові хворих корів. Причому зростання активності ензиму мало пролонгований

характер і на 9-ту добу вона вірогідно підвищувалась на 25,0 % порівняно до показника на початку експерименту.

3.2.2. Стан клітинної і гуморальної ланок імунної системи корів за субклінічної форми маститу та дії препарату «Антимаст». Важливе значення при вивченні імунного статусу організму має дослідження кількісного складу та функціональної активності Т- і В-лімфоцитів, як провідних імунокомпетентних клітин крові, оскільки вони характеризують рівень захисних сил організму тварин, стан специфічного імунітету та зберігають чутливість до антигенів збудника хвороби навіть при прихованій формі перебігу маститу.

Результати досліджень кількості та функціональної активності Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) у периферичній крові корів наведені у таблиці 3.9. У корів хворих на субклінічну форму маститу відмічено дещо нижчий рівень загальної кількості Т-лімфоцитів за рахунок зменшення популяції клітин із низькою щільністю рецепторів ($p < 0,01$).

Таблиця 3.9

Кількість ТЕ-РУЛ у крові корів, % ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
ТЕ-РУЛ, 0	$34,00 \pm 1,14$	$38,20 \pm 2,18$	$33,20 \pm 1,02$	$34,20 \pm 0,97$
3–5	$52,20 \pm 0,73$	$47,40 \pm 1,08^{**}$	$52,60 \pm 1,03^{\circ\circ}$	$54,00 \pm 0,45^{\circ\circ\circ}$
6–10	$13,40 \pm 0,87$	$13,40 \pm 1,29$	$14,20 \pm 0,58$	$12,20 \pm 0,66$
М	$0,40 \pm 0,24$	$1,00 \pm 0,32$	$0,00 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
%	$66,00 \pm 1,14$	$61,80 \pm 1,76$	$66,80 \pm 1,02$	$66,20 \pm 0,73^{\circ}$

Кількість ТЕ-РУЛ, яка на початку експерименту становила $61,8 \pm 1,76$ %, збільшилась і на період одужання була на рівні $66,2 \pm 0,73$ % ($p < 0,05$) та наблизилась до рівня величин цього показника у клінічно здорових тварин. Ці зміни відбувались за рахунок поступового зростання кількості низькодиференційованих клітин, яка становила $52,6 \pm 1,03$ % ($p < 0,01$) на 3-тю добу та $54,0 \pm 0,45$ % ($p < 0,001$) на 9-ту порівняно із показником $47,4 \pm 1,08$ %, зафіксованим на 1-шу добу експерименту. При цьому відмічено тенденцію до зниження кількості «нульових», недиференційованих клітин.

Відомо, що популяція Т-лімфоцитів крові складається з декількох субпопуляцій, клітини яких відрізняються за функціональним станом. Тому використання у дослідженнях тесту «активного» розеткоутворення дозволяє визначити субпопуляцію Т-клітин, які мають рецептори до індикаторних клітин (еритроцитів) і активно взаємодіють з ними без додаткової сенсibilізації [127].

З одержаних даних бачимо, що захворювання корів на субклінічну форму маститу призводить до зменшення кількості Т-активних лімфоцитів крові ($p < 0,01$) (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Кількість ТА-РУЛ у крові корів, % ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
ТА-РУЛ, 0	$58,60 \pm 0,81$	$62,80 \pm 0,91^{**}$	$57,20 \pm 0,73^{\circ\circ}$	$55,40 \pm 0,40^{**\circ\circ\circ}$
3–5	$34,20 \pm 0,37$	$30,60 \pm 0,74^{**}$	$32,80 \pm 0,37^{\circ}$	$34,80 \pm 0,37^{\circ\circ}$
6–10	$7,0 \pm 0,37$	$6,60 \pm 0,50$	$9,20 \pm 0,37^{**\circ\circ}$	$9,80 \pm 0,20^{***\circ\circ\circ}$
%	$41,40 \pm 0,81$	$37,20 \pm 0,91^{**}$	$42,80 \pm 0,37^{\circ\circ\circ}$	$44,80 \pm 0,37^{**\circ\circ\circ}$

Щодо ступеня їх диференціації, то зміни кількості ТА-РУЛ у крові корів цієї групи відбувались за рахунок зменшення популяції клітин із низькою щільністю рецепторів ($p<0,01$) і збільшення «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні Т-лімфоцитів ($p<0,01$).

Інтрацистернальне введення коровам дослідної групи препарату «Антимаст» сприяло вірогідному зростанню відносної кількості Т-активних лімфоцитів крові на 9-ту добу порівнянні з тваринами контрольної групи. У цей період у крові тварин зафіксовано зменшення «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні клітин ($p<0,01$) та підвищення на 3-тю та 9-ту добу кількості середньоавідних ТА-РУЛ ($p<0,01$; $p<0,001$).

У процесі лікування нами встановлено значне зростання відносної кількості Т-активних лімфоцитів ($p<0,001$), яке відбувається на тлі вірогідного підвищення клітин з низькою та середньою щільністю рецепторів та зниження «нульових», неактивних у функціональному відношенні ТА-РУЛ.

При дослідженні імунного статусу організму важливе значення належить Т-хелперам (теофілін-резистентні клітини) та Т-супресорам (теофілін-чутливі клітини), які належать до популяції імунорегуляторних клітин.

У хворих корів констатовано зменшення кількості теофілін-резистентних Т-лімфоцитів крові ($p<0,01$) (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

Кількість Th і Ts-лімфоцитів у крові корів, % ($M\pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
1	2	3	4	5
Th, 0	51,0 $\pm$ 0,63	55,2 $\pm$ 0,86**	49,2 $\pm$ 0,58 ^{°°°}	47,6 $\pm$ 0,75*** ^{°°°}
3–5	41,2 $\pm$ 0,58	37,4 $\pm$ 0,75**	42,4 $\pm$ 0,51 ^{°°°}	45,2 $\pm$ 0,66*** ^{°°°}
6–10	7,8 $\pm$ 0,37	7,6 $\pm$ 0,40	8,4 $\pm$ 0,51	7,2 $\pm$ 0,92

1	2	3	4	5
%	49,0±0,63	44,8±0,86**	50,8±0,58	52,4±0,75**
Ts, %	17,0±0,41	17,0±0,75	16,0±1,38	13,8±1,08*°
IPI	2,73±0,10	2,63±0,17	2,93±0,29	2,38±0,22

Щодо ступеня їх диференціації, то зміни Th-лімфоцитів у крові корів цієї групи відбувались за рахунок зменшення популяції клітин із низькою щільністю рецепторів ($p<0,01$) і збільшення «нульових» Т-лімфоцитів ($p<0,01$).

Важливе діагностичне значення за умов захворювання має визначення співвідношення між теофілін-резистентними (Th) і теофілін-чутливими (Ts) лімфоцитами крові — імунорегуляторний індекс (IPI). У корів, хворих на субклінічну форму маститу, зафіксовано зниження IPI на 3,7 %.

Введення коровам дослідної групи препарату «Антимаст» сприяло вірогідному зростанню Т-хелперів на 9-ту добу, порівняно до показника здорових корів ($p<0,01$). При цьому у крові тварин цієї групи зафіксовано зростання низькоавідних клітин ($p<0,01$) і зниження кількості недиференційованих лімфоцитів ($p<0,01$). У цей період нами відмічено вірогідне зменшення Т-супресорів у крові корів ($p<0,05$).

У динаміці лікування відзначено тенденцію до зростання кількості теофілін-резистентних Т-лімфоцитів крові — на 13,4 % на 3-тю та 17,0 % на 9-ту добу відносно цього показника у хворих корів до початку експерименту. Такі зміни відбувались за рахунок зростання кількості низькоавідних та зменшення «нульових» Т-хелперів ($p<0,001$). Кількість теофілін-чутливих клітин була вірогідно нижчою на 9-ту добу експерименту.

Дослідження кількості і функціональної активності антигензв'язуючих В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ) у периферичній крові корів наведені у таблиці 3.12. З одержаних даних бачимо, що захворювання корів на приховану форму маститу призводить до незначного зниження кількості цієї популяції лімфоцитів. Проте різниці були вірогідними порівняно до контролю лише за кількістю ЕАС-РУЛ

із низькою щільністю рецепторів. На 9-ту добу експерименту спостерігається вірогідно вища кількість В-лімфоцитів порівняно до тварин контрольної групи. У цей період відмічено зростання кількості низькоавідних клітин ($p < 0,001$) та зниження недиференційованих ЕАС-РУЛ ($p < 0,01$). На 3-тю добу кількість середньоавідних клітин була вірогідно більшою, ніж у здорових корів.

Таблиця 3.12

Кількість В-лімфоцитів у крові корів ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
ЕАС-РУЛ, 0	$57,60 \pm 0,68$	$59,40 \pm 0,51$	$55,60 \pm 0,81^{\circ}$	$54,20 \pm 0,37^{***\circ\circ}$
3-5	$36,80 \pm 0,37$	$34,80 \pm 0,37^{**}$	$36,40 \pm 0,51^{\circ}$	$39,80 \pm 0,37^{***\circ\circ}$
6–10	$5,60 \pm 0,60$	$5,80 \pm 0,49$	$8,00 \pm 0,45^{*\circ}$	$6,20 \pm 0,58$
%	$42,40 \pm 0,68$	$40,60 \pm 0,51$	$44,40 \pm 0,81^{\circ\circ}$	$45,80 \pm 0,37^{***\circ\circ}$

Ефективність вибраної схеми лікування підтверджується вищою відносною кількістю В-лімфоцитів на 3-тю і 9-ту доби експерименту порівняно до значення цього показника на 1-шу добу ($p < 0,01$; $p < 0,001$). Такі зміни відбулись завдяки збільшенню кількості клітин із середньою щільністю рецепторів на 3-тю добу лікування ($p < 0,05$) та із низькою — на 3-тю та 9-ту доби ($p < 0,05$; $p < 0,001$). Водночас кількість недиференційованих ЕАС-РУЛ знижувалась і була меншою ($p < 0,01$; $p < 0,001$).

Фагоцитоз є одним з найважливіших факторів структурного та імунного гомеостазу, який спрямований на збереження сталості внутрішнього середовища організму. Цей процес об'єднує різні клітинні реакції в напрямку розпізнавання об'єкта фагоцитозу, його знешкодження та видалення з організму. Вивчаючи

фагоцитарну активність нейтрофільних гранулоцитів крові — одну із основних ланок природного клітинного імунітету організму, встановлено, що захворювання корів на субклінічну форму маститу призводить до зміни показників фагоцитозу реактивних клітин крові (табл. 3.13). Зокрема, ФА нейтрофільних гранулоцитів у крові хворих корів була на 4,4 % вищою, ніж у тварин контрольної групи, проте різниці були не вірогідні. Тим не менше результати цих досліджень вказують на посилення запального процесу в організмі. Про це також свідчить зниження інтенсивності фагоцитозу (ФІ) у корів із субклінічним запальним процесом молочної залози. Так, показник ФІ, що характеризує інтенсивність фагоцитозу у хворих корів був на 16,8 % менший ($p < 0,05$), ніж у клінічно здорових тварин. При цьому у крові корів дослідної групи зафіксовано тенденцію до зменшення кількості мікробних клітин, що припадає на один підрахований фагоцит (ФЧ).

Таблиця 3.13

Динаміка показників фагоцитозу нейтрофілів крові корів за субклінічного маститу та за введення апіфітопрепарату ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
ФА, %	42,00 $\pm$ 1,70	46,40 $\pm$ 1,81	44,00 $\pm$ 2,07	43,00 $\pm$ 1,70
ФІ, од.	10,78 $\pm$ 0,43	8,97 $\pm$ 0,60*	9,40 $\pm$ 0,55	9,82 $\pm$ 0,31
ФЧ, од.	4,53 $\pm$ 0,28	4,14 $\pm$ 0,25	4,18 $\pm$ 0,42	4,24 $\pm$ 0,30
НСТ-тест (спонтанний), %	7,40 $\pm$ 1,03	13,20 $\pm$ 1,46*	11,6 $\pm$ 0,93*	8,20 $\pm$ 0,86°

Разом з цим спостерігаються також зміни такого важливого функціонального показника фагоцитарних клітин, як спонтанний НСТ-тест, який відображає активність інтралейкоцитарної бактерицидної системи — важливої ланки неспецифічної резистентності організму. Зокрема, у хворих корів цей показник був у 1,8 разу ($p < 0,05$) вищим, ніж у клінічно здорових. Ці дані свідчать про наявність в організмі корів, хворих на субклінічний мастит, токсичних продуктів патологічного процесу, внаслідок чого нейтрофіли не здатні до завершеного фагоцитозу.

Проте, в динаміці лікування відбувалася певна корекція фагоцитарного захисту. Так, вже на третій день курації реактивність фагоцитарних клітин поступово знижувалась і ця тенденція зберігалась до кінця експерименту, що вказувало на повне згасання запальної реакції. Поряд з цим, упродовж лікування фагоцитарні клітини активно здійснювали свою атрактивну та поглинальну здатність, що проявлялася підвищенням фагоцитарного індексу та фагоцитарного числа. Це узгоджується із динамікою змін спонтанного НСТ-тесту. Між його інтенсивністю і здатністю клітин до завершеного фагоцитозу існує обернена залежність. У корів дослідної групи на 3-тю добу після введення препарату «Антимаст» цей показник був у 1,6 разу ($p < 0,05$) більшим, ніж у корів контрольної групи, проте до дев'ятої доби дослідження знижувався до рівня нормативних величин, і різниці порівняно до початку лікування були вірогідні.

Субклінічний запальний процес у молочній залозі корів проявлявся зниженням рівня напруженості бактерицидної активності сироватки крові $39,80 \pm 1,83$ % проти $46,03 \pm 1,84$ % ($p < 0,05$) та лізоцимної активності сироватки крові $24,4 \pm 1,72$ % проти $28,2 \pm 1,46$ % (табл. 3.14). Проведені дослідження виявили надмірне антигенне навантаження та накопичення метаболітів запалення в організмі хворих корів, що виражено у суттєвому збільшенні кількості циркулюючих імунних комплексів ($p < 0,01$).

Подальші наші дослідження підтвердили доцільність застосованого лікування. Відзначено зростання напруженості бактерицидної активності

сироватки крові у тварин дослідної групи на 9-ту добу після інтрацистернального введення препарату ($p < 0,05$), а також тенденцію до зростання лізоцимної активності сироватки крові корів. Концентрація ЦІК у сироватці крові тварин дослідної групи на 9-ту добу експерименту вірогідно зменшилась, що вказує на нормалізуючий вплив препарату на організм корів.

Таблиця 3.14

Гуморальні фактори захисту крові корів ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
БАСК, %	46,03 $\pm$ 1,84	39,80 $\pm$ 1,83*	42,14 $\pm$ 2,06	47,11 $\pm$ 2,26°
ЛАСК, %	28,2 $\pm$ 1,46	24,4 $\pm$ 1,72	25,8 $\pm$ 1,39	27,4 $\pm$ 1,96
ЦІК, ммоль/л	69,4 $\pm$ 2,25	82,2 $\pm$ 3,04**	78,4 $\pm$ 2,50*	72,8 $\pm$ 2,35°

Вивчення змін метаболічного гомеостазу організму корів, хворих на субклінічну форму маститу, має важливе значення для оцінки їх фізіологічного стану. Надходження токсичних речовин з первинних вогнищ ураження та їх перерозподіл з течією лімфи та крові в органах і тканинах організму зумовлюють генералізацію ендотоксикозу. Тому раннє виявлення біохімічних маркерів ендогенної інтоксикації за умов розвитку даного патологічного процесу може слугувати прогностичним фактором розвитку захворювання. Як інформативний тест ступеня ендогенної інтоксикації організму використовують рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів.

3.2.3. Біохімічні показники молока корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов інтрацистернального введення препарату «Антимаст». У результаті проведених досліджень з'ясовано, що у тварин з

ознаками маститу до початку лікування у молоці вміст похідних ОМП₃₇₀ та ОМП₄₃₀ був вищим у 2,36 і 2,38 раза ($p<0,05$; $p<0,01$) відповідно порівняно з показниками молока корів контрольної групи (табл. 3.15). Введення досліджуваного препарату викликало зниження інтенсивності окисних процесів, що виявилось у вірогідному зменшенні вмісту в молоці корів дослідної групи альдегідних похідних на 3-тю добу після початку лікування від значення $16,08\pm1,45$ (нмоль/мг білка) до $9,73\pm1,13$ (нмоль/мг білка), а на 9-ту добу — $5,34\pm0,75$ (нмоль/мг білка) ($p<0,1$, $0,01$). Аналогічні зміни зафіксовано у вмісті кетонових похідних.

Таблиця 3.15

Вміст альдегідних (ОМП₃₇₀) та кетонових (ОМП₄₃₀) похідних окисної модифікації протеїнів та активність супероксиддисмутази у молоці корів (M $\pm$ m, n=5)

Досліджувані показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
ОМП ₃₇₀ , (нмоль/мг білка)	6,81 $\pm$ 2,90	16,08 $\pm$ 1,45*	9,73 $\pm$ 1,13 ^{oo}	5,34 $\pm$ 0,75 ^{ooo}
ОМП ₄₃₀ , (нмоль/мг білка)	5,725 $\pm$ 1,7	16,24 $\pm$ 2,46**	7,845 $\pm$ 1,32 ^o	3,8 $\pm$ 1,15 ^{ooo}
СОД, од. акт./мг хв	11,96 $\pm$ 1,86	11,84 $\pm$ 2,34	14,68 $\pm$ 1,08	13,55 $\pm$ 1,39

Очевидно, що застосування досліджуваного способу лікування маститу у корів, сприяло пролонгованому зниженню інтенсивності окисних процесів у молоці тварин, що зумовлено як стимулюючою дією компонентів препарату, так і його впливом на активність ендогенних захисних механізмів в організмі. Це підтвердили результати, які ми отримали при дослідженні активності

ензимів АОС. Так на 3-тю та 9-ту доби від початку лікування ми відзначили тенденцію до зростання активності супероксиддисмутази у молоці тварин дослідної групи порівняно із показниками цих тварин на початку досліджу.

У молоці корів із субклінічною формою маститу, порівняно з клінічно здоровими тваринами, виявлено суттєве збільшення ($p < 0,001$) кількості соматичних клітин (табл. 3.16).

Інтрацистернальне введення апіфітопрепарату «Антимаст» спричиняло зменшення у секреті вимені хворих корів кількості соматичних клітин з третьої доби експерименту. При цьому на 9-ту добу експерименту число соматичних клітин вірогідно знизилось на 53,7 % порівняно з цим показником у корів дослідної групи до введення препарату.

Таблиця 3.16

Вміст соматичних клітин у молоці корів ($M \pm m$; $n=7$)

Показник	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
СК, тис/см ³	251,7 $\pm$ 35,11	724,0 $\pm$ 64,01***	595,7 $\pm$ 45,05***	335,1 $\pm$ 59,29 ^{°°}

При дослідженні фізико-хімічних показників молока корів із субклінічним маститом виявлено тенденцію до зниження вмісту жиру, білка та лактози порівняно до їх значення у клінічно здорових тварин. При цьому зафіксовано зменшення сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ) на 8 % і показника густини на 11 % ($p < 0,05$). Інтрацистернальне введення коровам препарату «Антимаст» зумовлювало нормалізуючий вплив на досліджувані фізико-хімічні показники молока у хворих корів. (табл. 3.17).

Таблиця 3.17

Порівняльний аналіз фізико-хімічного складу молока здорових та хворих корів та його корекція ін'єкцією апіфітопрепарату ($M \pm m$, $n=10$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до введення препарату	3-тя доба після введення	9-та доба після введення
Жир, %	3,44±0,14	3,15±0,11	3,27±0,25	3,46±0,17
СЗМЗ, %	8,49±0,25	7,81±0,14*	8,06±0,12	8,27±0,29
Густина, °А	28,32±1,07	25,18±1,13*	26,6±1,16	27,88±1,06
Білок, %	3,02±0,19	2,78±0,15	2,86±0,13	2,98±0,11
Температура замерзання, °С	0,56±0,05	0,52±0,07	0,52±0,07	0,52±0,08
Лактоза, %	4,84±0,13	4,45±0,18	4,60±0,15	4,54±0,16

Висновки до підрозділу 3.2

1. У проведеній серії досліджень було підтверджено зниження імунобіологічної реактивності на фоні інтенсифікації окисних процесів і накопичення продуктів пероксидації у крові та молоці тварин із субклінічним маститом.

2. Запропонована схема лікування корів з використанням емульсії «Антимаст» позитивно вплинула на відновлення гематологічних та імунобіологічних показників корів дослідної групи. Встановлено зниження фагоцитарної активності нейтрофілів крові, зростання напруженості бактерицидної активності сироватки крові на 9-ту добу після інтрацистернального введення препарату. Концентрація ЦІК у сироватці крові тварин дослідної групи на 9-ту добу експерименту вірогідно зменшилась. Застосоване лікування сприяло вірогідному зниженню вмісту похідних окисної модифікації протеїнів у крові та молоці корів.

3.3. Стан імунного й антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування мазі «Антимаст»

3.3.1. Гематологічні та біохімічні показники крові у корів, хворих на субклінічну форму маститу, за умов застосування препарату «Антимаст» у формі мазі. Механізм лікувальної дії мазі «Антимаст», в склад якої входять прополіс, олія рицинова, віск бджолиний, жири тваринного походження, мед бджолиний, квітковий пилок та живиця соснова, в комплексі з масажем вимені полягає у сукупній антисептичній, протизапальній, пом'якшуючій та регенеруючій дії складових препарату та подразненні численних рецепторів закладених у шкірі молочної залози корів, що викликає нейрогуморальну реакцію, внаслідок якої проходить скорочення міоепітеліальних клітин альвеол, що сприяє видаленню ексудату, токсинів, мікробних тіл та продуктів запального процесу, знижуючи тим самим інтоксикацію секреторної тканини. При цьому стимулюється утворення молока, збільшується секреція антимікробних речовин та активуються компоненти захисної функції вимені.

Проведені гематологічні дослідження показали, що з початком лікування у тварин дослідної групи відмічено позитивну динаміку (табл. 3.18). Зокрема, загальна кількість лейкоцитів у крові корів зменшилась на 9-ту добу після введення препарату, порівняно із рівнем зафіксованим на 1-шу добу експерименту ($p < 0,05$). Загальна кількість еритроцитів впродовж досліджень залишалась без змін. Спостерігаємо тенденцію до зростання вмісту гемоглобіну у корів дослідної групи на 3-тю та 9-ту доби експерименту, порівняно з контрольною групою.

Таблиця 3.18

Гематологічні та біохімічні показники крові корів ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку

	(контроль)	мазі		нанесення
Еритроцити, Т/л	6,72±0,17	6,43±0,18	6,63±0,03	6,77±0,14
Гемоглобін, г/л	101,61±1,50	101,97±8,13	105,27±3,33	109,08±4,01
Лейкоцити, Г/л	7,5±0,50	9,8±0,62*	8,9±0,89	7,8±0,51°
Загальний білок, г/л	72,33±1,49	69,58±0,83	71,6±0,58	72,47±0,47

Аналіз даних лейкограми крові показав, що кількість сегментоядерних нейтрофілів у периферичній крові корів дослідної групи на першу добу експерименту була більшою на 27,7 %, а лімфоцитів меншою на 21,8 % порівняно до вказаних показників у клінічно здорових тварин ($p<0,01$). Застосування коровам препарату «Антимаст» у формі мазі спричиняло зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів та збільшення числа лімфоцитів на 9-ту добу порівняно з 1-ою добою експерименту на 16,7 і 19,7 % відповідно ($p<0,05$).

Таблиця 3.19

Лейкоцитарний профіль крові корів ($M\pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
Базофіли, %	1,50±0,50	1,33±0,33	1,0±0,00	1,33±0,33
Еозинофіли, %	4,2±0,58	5,8±0,66	5,2±0,73	5,0±0,45
Паличкоядерні нейтрофіли, %	3,8±0,66	6,4±0,51*	5,4±0,68	4,8±0,37°

Сегментоядерні нейтрофіли, %	28,2±1,24	36,0±1,61**	33,0±1,67*	30,0±1,00°
Лімфоцити, %	58,6±1,21	45,8±2,76**	50,8±2,60*	54,8±1,71°
Моноцити, %	4,6±0,51	5,2±0,86	5,0±0,55	4,6±0,40

3.3.2. Стан клітинної і гуморальної ланок імунної системи корів за умов субклінічної форми маститу та за дії мазі «Антимаст». Менш динамічно проходили зміни відносної кількості Т-лімфоцитів (ТЕ-РУЛ) у периферичній крові хворих корів та за умов застосування мазі «Антимаст» (табл. 3.20). Аналіз функціональної активності ТЕ-РУЛ показав вірогідно більшу кількість недиференційованих клітин та меншу — низькоавідних у корів хворих на приховану форму маститу порівняно з контрольною групою ($p<0,001$). Використання мазі сприяє зменшенню кількості «нульових» ТЕ-РУЛ на 9-ту добу експерименту порівняно до тварин дослідної групи на 1-шу добу експерименту ($p<0,05$).

Таблиця 3.20

Кількість ТЕ-РУЛ у крові корів, % ($M\pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
ТЕ-РУЛ, 0	34,2±0,67	40,0±0,54***	38,2±0,58**	37,0±1,14°
3–5	53,0±0,67	47,2±0,37***	50,4±2,06	49,8±1,26
6–10	12,2±0,80	12,0±0,54	12,4±0,24	12,6±0,54
М	1,0±0	—	—	—
%	63,8±2,05	60,0±0,54	61,0±0,44	61,4±0,50

У хворих корів констатовано вірогідно меншу відносну кількість Т-активних лімфоцитів крові у період до початку лікування та на 3-тю добу експерименту ($p<0,05$) (табл. 3.21). Щодо ступеня їх диференціації, то зміни кількості ТА-РУЛ у крові корів дослідної групи відбувались за рахунок зменшення популяції клітин із низькою щільністю рецепторів ($p<0,001$) та збільшення недиференційованих лімфоцитів ($p<0,05$).

При застосуванні мазі «Антимаст» встановлено збільшення кількості середньоавідних лімфоцитів на 3-тю та 9-ту добу порівняно із тваринами контрольної групи ($p<0,05$; $0,01$). Відносна кількість ТА-РУЛ у крові корів дослідної групи на 9-ту добу була більшою порівняно із значенням цього показника у крові тварин до початку лікування ($p<0,05$). При цьому у цей період кількість «нульових» клітин зменшувалась ($p<0,05$), а низько- та середньоавідних збільшувалась ($p<0,05$; $p<0,01$).

Таблиця 3.21

Кількість ТА-РУЛ у крові корів, % ($M\pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
ТА-РУЛ, 0	$59,4\pm 0,50$	$62,0\pm 0,70^*$	$60,2\pm 0,37$	$59,8\pm 0,58^\circ$
3–5	$34,2\pm 0,58$	$29,4\pm 0,74^{***}$	$29,6\pm 0,60^{***}$	$32,4\pm 0,87^\circ$
6–10	$6,2\pm 0,58$	$7,1\pm 0,31$	$7,9\pm 0,37^*$	$8,8\pm 0,37^{**\circ}$
%	$40,6\pm 0,50$	$38,0\pm 0,70^*$	$38,6\pm 0,50^*$	$40,4\pm 0,50^\circ$

У хворих корів, порівняно із здоровими, констатовано меншу відносну кількість теофілін-резистентних Т-лімфоцитів крові ($p<0,01$) (табл. 3.22). Щодо ступеня диференціації, встановлено вірогідно більшу кількість «нульових» Th-

лімфоцитів, яка дещо зменшується наприкінці досліду та нижчу — низькоавідних клітин до лікування та на 3-тю добу ($p<0,001$; $p<0,05$).

Важливе діагностичне значення за умов захворювання має визначення співвідношення між теофілін-резистентними (Th) і теофілін-чутливими (Ts) Т-лімфоцитами крові — імунорегуляторний індекс (ІРІ). У корів, хворих на СМ, зафіксовано зниження ІРІ на 11,9 %.

При застосуванні мазі «Антимаст» у комплексі з масажем молочної залози у корів дослідної групи спостерігали вірогідне зростання теофілін-резистентних Т-лімфоцитів на 9-ту добу порівняно із показником зафіксованим на 1-шу добу експерименту ($p<0,05$). Ці зміни відбувались на тлі зменшення кількості недиференційованих клітин ($p<0,05$) та збільшення кількості низькоавідних ($p<0,05$). Водночас відмічено незначне зменшення кількості Т-супресорів та підвищення значення імунорегуляторного індексу.

Таблиця 3.22

Кількість Th і Ts-лімфоцитів у крові корів, % ($M\pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
Th, 0	59,4 $\pm$ 0,50	64,2 $\pm$ 1,15**	61,8 $\pm$ 1,07	61,0 $\pm$ 0,71°
3–5	32,2 $\pm$ 0,37	28,0 $\pm$ 0,63***	28,0 $\pm$ 1,51*	31,4 $\pm$ 0,87°
6–10	8,4 $\pm$ 0,24	7,4 $\pm$ 0,40	8,0 $\pm$ 0,41	7,4 $\pm$ 0,67
%	40,6 $\pm$ 0,50	35,8 $\pm$ 1,15**	37,4 $\pm$ 0,67**	39,0 $\pm$ 0,61°
Ts, %	24,0 $\pm$ 1,18	24,2 $\pm$ 0,80	23,4 $\pm$ 0,50	22,4 $\pm$ 0,40
ІРІ	1,68 $\pm$ 0,09	1,48 $\pm$ 0,10	1,58 $\pm$ 0,04	1,70 $\pm$ 0,03

Результати досліджень кількості антигензв'язуючих В-лімфоцитів (ЕАС-РУЛ) у периферичній крові корів наведені у таблиці 3.23. У корів хворих на субклінічну форму маститу відмічено вірогідно меншу відносну кількість цих клітин на 1-шу та 3-тю доби експерименту порівняно із здоровими тваринами ($p<0,001$; $p<0,05$). Кількість низькоавідних лімфоцитів у корів із СМ менша до лікування ($p<0,05$), а «нульових» вірогідно більша до нанесення мазі та на 3-тю добу експерименту.

Нами встановлено, що застосування мазі «Антимаст» при лікуванні корів хворих на приховану форму маститу, сприяє збільшенню кількості ЕАС-РУЛ на 9-ту добу по відношенню до періоду до початку лікування ($p<0,05$). Кількість недиференційованих у функціональному відношенні В-лімфоцитів вірогідно зменшується протягом експериментального періоду ($p<0,001$), а низькодиференційованих збільшується на 9-ту добу від початку лікування ($p<0,05$).

Таблиця 3.23

Кількість В-лімфоцитів у крові корів, % ($M\pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
ЕАС-РУЛ, 0	$56,4\pm 0,60$	$60,6\pm 0,24^{***}$	$58,2\pm 0,37^{***}$	$57,8\pm 0,37^{***}$
3-5	$37,2\pm 1,06$	$34,0\pm 0,50^*$	$34,8\pm 0,58$	$35,8\pm 0,37^{\circ}$
6–10	$6,6\pm 0,74$	$5,4\pm 0,40$	$6,0\pm 0,54$	$5,4\pm 0,50$
%	$43,6\pm 0,60$	$39,4\pm 0,24^{***}$	$40,8\pm 0,77^*$	$42,2\pm 0,87^{\circ}$

Т-лімфоцитопенія, яка виникає при СМ може бути обумовлена зменшенням числа передадаптованих лімфоцитів у периферичній крові

внаслідок їх міграції з судинного русла в лімфоїдну тканину. Ці процеси відбуваються на тлі підвищення абсолютної кількості лейкоцитів і зниження відносної кількості лімфоцитів.

Резистентність організму проти інфекції та ефективна елімінація збудників захворювань різної природи із крові, в значній мірі залежить від функціональної активності та ефективності клітин фагоцитарної системи. Спонтанний тест з нітросинім тетразолієм дозволяє оцінити стан Оксигензалежних механізмів бактерицидності фагоцитів (гранулоцитів) крові *in vitro*. Він характеризує стан та ступінь активації внутрішньоклітинної НАДФ-Н-оксидазної антибактеріальної системи.

Проведене лікування також позначилось на показниках фагоцитарної реактивності клітин — відмічена певна корекція фагоцитарного захисту (табл. 3.24). Зокрема, відмічене на початку дослідження зниження фагоцитарного індексу ($p < 0,05$) та фагоцитарного числа поступово нормалізувалось і на 9-ту добу від початку лікування ці показники були на рівні контрольної групи. Нами спостерігались також зміни такого важливого функціонального показника фагоцитарних клітин, як НСТ-тест. На 3-тю добу цей показник суттєво знизився і на період закінчення лікування він був вірогідно нижчим, ніж перед його початком.

Таблиця 3.24

Зміни показників фагоцитозу крові корів, хворих на субклінічний мастит в динаміці лікування ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
ФА, %	$41,4 \pm 2,06$	$45,2 \pm 1,74$	$43,8 \pm 1,56$	$42,8 \pm 1,39$
ФІ, од.	$10,62 \pm 0,27$	$9,19 \pm 0,41^*$	$9,80 \pm 0,23^*$	$10,73 \pm 0,24^*$

ФЧ, од.	4,40±0,27	4,17±0,31	4,34±0,16	4,60±0,21
НСТ-тест (спонтанний), %	8,0±1,14	14,0±1,41*	12,2±1,39*	9,4±1,08°

Вивчаючи неспецифічну імунобіологічну реактивність організму корів в процесі проведення терапевтичних дій нами було встановлено, що застосування мазі «Антимаст» в комплексі з масажем молочної залози сприяло поступовому зростанню напруженості бактерицидної активності сироватки крові і вже на 9-ту добу від початку лікування цей показник був вірогідно вищим порівняно з періодом до лікування (табл. 3.25). Проходила нормалізація рівня лізоцимної активності сироватки крові та циркулюючих імунних комплексів, проте, в період реконвалесценції вони лише дещо наблизились до контрольних показників.

Таблиця 3.25

Зміни рівня гуморальних факторів захисту крові корів ($M \pm m$; $n=5$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
БАСК, %	47,14±2,29	38,55±1,82*	41,92±1,47	45,71±2,50°
ЛАСК, %	29,8±1,56	24,6±1,60*	26,2±2,20	27,4±1,72
ЦІК, ммоль/л	71,4±2,80	80,2±2,29*	77,8±2,52	74,2±2,18

Проведені дослідження показали вищий вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів ($p < 0,05$) у плазмі крові корів дослідної групи на початку експерименту у порівнянні з тваринами контрольної групи (табл. 3.26).

Таблиця 3.26

**Вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів у плазмі крові
корів ($M \pm m$; $n=5$)**

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
ТБК-активні продукти, мкмоль/л	7,02 $\pm$ 0,179	7,77 $\pm$ 0,220*	7,25 $\pm$ 0,257	7,11 $\pm$ 0,143°
Гідроперекиси ліпідів, од. Е/мл	1,32 $\pm$ 0,104	1,88 $\pm$ 0,152*	1,54 $\pm$ 0,118	1,41 $\pm$ 0,126°

При проведенні лікування корів, хворих на субклінічний мастит, нами відмічено зниження вмісту продуктів ПОЛ у корів дослідної групи — на 9-ту добу від початку лікування вміст ТБК-активні продуктів та ГПЛ був нижчим на 8,49 та 25,00 % відповідно ($p < 0,05$). Це вказує на ефективність та адекватність застосованої терапії.

Як видно із результатів проведених досліджень, ГП-активність у крові корів дослідної групи до лікування та на 3-тю добу після початку лікування була нижча, а на 9-ту добу більша, ніж у тварин контрольної групи (табл. 3.27). Аналогічні зміни спостерігаємо у корів дослідної групи й за вмістом відновленого глутатіону. Отримані дані свідчать про виражену антиоксидантну та детоксикаційну дію складових досліджуваного препарату.

Таблиця 3.27

**Глутатіонпероксидазна активність та вміст відновленого глутатіону
у крові корів ($M \pm m$; $n=5$)**

Показники	Клінічно здорові	Тварини із субклінічним маститом (дослід)
-----------	---------------------	--

	тварини (контроль)	до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
ГП-акт. в еритроцитах, Нм GSH/хв на 1 мг протеїну	22,10±1,21	20,61±1,14	20,72±1,24	24,18±1,09
Відновлений глутатіон в еритроцитах, мкМ/мл	0,48±0,03	0,44±0,04	0,46±0,04	0,49± 0,03

3.3.3. Біохімічні та імунологічні показники молока корів хворих на субклінічний мастит за умов застосування препарату «Антимаст» у вигляді мазі. Застосування мазі для лікування маститу у корів показало схожі результати, що були отримані у першому досліді. Так, встановлено вірогідне зниження вмісту похідних окисної модифікації протеїнів у молоці тварин дослідної групи, яким проводили терапію маззю Антимаст упродовж дослідного періоду порівняно із показниками цих тварин на початку лікування (табл. 3.28).

Ще раз підтверджено, що мастит як патологічний чинник негативно впливає на процеси метаболізму у молочній залозі, що виявляється у різкому зростанні інтенсивності окисних процесів і як наслідок вірогідному підвищенні вмісту продуктів окиснення протеїнів у молоці.

Таблиця 3.28

Вміст альдегідних (ОМП₃₇₀) та кетонових (ОМП₄₃₀) похідних окисної модифікації протеїнів та активності супероксиддисмутази у молоці корів (M±m, n=5)

Досліджувані показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
ОМП ₃₇₀ , (нмоль/мг білка)	5,42±0,9	12,08±1,45**	8,78±0,93	6,84±0,46 ^{oo}

ОМП ₄₃₀ , (нмоль/мг білка)	5,725±1,7	15,33±1,96**	11,44±1,26*	6,79±1,05 ^{oo}
СОД, од. акт./мг хв	10,16±1,31	10,84±0,94	11,12±0,82	12,16±0,39

Відзначено тенденцію до зростання активності ензимної ланки антиокисного захисту, а саме супероксиддисмутази, що зумовлено застосуванням мазі і потребою у підвищеній інтенсивності ліквідації наслідків посилення окисних процесів.

Відомо, що збільшення кількості соматичних клітин у молоці корів є наслідком запальних процесів вимені. Дослідження показали, що застосування коровам, хворим на субклінічну форму маститу, мазі «Антимаст» спричиняло зниження ($p < 0,001$) кількості соматичних клітин у секреті молочної залози, особливо на 9-ту добу експерименту порівняно з цим показником на 1-шу добу досліджень (табл. 3.29).

Таблиця 3.29

Вміст соматичних клітин у молоці корів ($M \pm m$; $n=7$)

Показник	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
СК, тис/см ³	237,3±37,64	677,4±65,81***	576,7±34,39***	352,9±47,06 ^{ooo}

Разом з цим у молоці хворих тварин, як і у першому досліді, зафіксовано зниження вмісту жиру, білка, лактози та сухого знежиреного молочного залишку, що може бути наслідком порушення секреторної функції лактоцитів альвеол молочної залози (табл. 3.30). З 3-ої доби від початку застосування мазі у молоці корів встановлено тенденцію до зростання вмісту жиру, а на 9-ту добу

він становив $3,18 \pm 0,13$ % порівняно з показником на першу добу експерименту $2,55 \pm 0,65$ %.

Подібні зміни констатовано при визначенні вмісту СЗМЗ і лактози — їх значення у молоці тварин із субклінічним маститом мали тенденцію до зростання.

Таблиця 3.30

Фізико-хімічні показники молока при нанесенні мазі ($M \pm m$; $n=7$)

Показники	Клінічно здорові тварини (контроль)	Тварини із субклінічним маститом (дослід)		
		до нанесення мазі	3-тя доба нанесення	9-та доба після початку нанесення
Жир, %	$3,4 \pm 0,14$	$2,55 \pm 0,65$	$2,85 \pm 0,39$	$3,18 \pm 0,13$
СЗМЗ, %	$8,92 \pm 0,92$	$7,18 \pm 1,13$	$7,55 \pm 1,07$	$8,76 \pm 0,84$
Густина, °А	$31,8 \pm 1,34$	$27,53 \pm 1,18^*$	$29,2 \pm 1,08$	$30,67 \pm 1,31$
Білок, %	$3,17 \pm 0,15$	$3,00 \pm 0,39$	$3,02 \pm 0,16$	$3,12 \pm 0,25$
Температура замерзання, °С	$0,59 \pm 0,06$	$0,55 \pm 0,05$	$0,56 \pm 0,07$	$0,59 \pm 0,08$
Лактоза, %	$5,14 \pm 0,16$	$4,78 \pm 0,14$	$4,82 \pm 0,11$	$4,99 \pm 0,17$

Висновки до підрозділу 3.3

1. У результаті проведених досліджень було доведено, що субклінічний мастит у корів вірогідно підвищує інтенсивність оксидативної модифікації ліпідів та протеїнів, і знижує імунологічну опірність організму.

2. Застосування мазі «Антимаст» сприяло вірогідному зростанню похідних окисної модифікації протеїнів, зростанню фагоцитарної активності нейтрофілів, нормалізації бактерицидної і лізоцимної активності крові на фоні зниження ЦК.

3.4. Терапевтична ефективність лікування корів хворих на доклінічну форму маститу апіфітопрепаратами

Ефективність лікування при прихованій формі маститу знаходиться в прямій залежності від своєчасності і послідовності надання лікувальної допомоги. Важливо не лише ліквідувати вогнище запалення, але й уникнути рецидиву, не допускати поширення захворювання на інші чверті вимені, зберегти продуктивність тварини та запобігти атрофії молочної залози.

Несвоєчасне та неправильне лікування при доклінічній формі маститу призводить до виникнення ускладнень. Індурація вимені (*Induratio uberi*) характеризується тим, що розростається проміжна сполучна тканина з одночасною атрофією паренхіми органу. Індурація виникає при маститах, коли в результаті запалення паренхіма (залозистий альвеолярний епітелій) руйнується і замінюється сполучною тканиною. Розрізняють первинну індурацію вимені, при якій зміні піддається вся залоза, і вторинну, коли уражаються окремі частини вимені. Уражена ділянка безболісна, рівномірної щільності або з наявністю вузлів. Молочна продуктивність залози зменшується або припиняється. При неповному переродженні альвеол можливе часткове відновлення секреції до початку нової лактації.

Як видно із даних таблиці 3.31, терапевтична ефективність протимаститних препаратів на основі апіпродуктів була високою, з незначною перевагою апіфітопрепарату «Антимаст» введеного інтрацистерно (100 %), проти аналогічного показника при застосуванні мазі (86 %).

Таблиця 3.31

Результати лікування корів (n=7)

Групи тварин	Кількість голів	Із них			
		Видужало		індурація вимені	
		голів	%	голів	%
Дослід 1	7	7	100	0	0

Дослід 2	7	6	86	0	0
----------	---	---	----	---	---

Проблема оздоровлення молочних стад від маститу не вирішується лише лікувальними заходами, вони повинні підкріплюватися комплексом організаційно-господарських, зоотехнічних і ветеринарно-санітарних заходів, спрямованих на підвищення неспецифічної резистентності організму, своєчасне усунення причин та факторів, що сприяють виникненню нових випадків хвороби.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Однією із найсерйозніших проблем у сучасному молочному скотарстві є раннє виявлення, профілактика та лікування маститів у корів [70, 74, 112, 120, 134, 153, 154, 251].

Показано, що приблизно 50 % молочних корів уражені маститами, у кожної корови інфіковано дві чверті вимені, але лише у незначної кількості тварин з'являються видимі ознаки захворювання [41]. У нашій країні втрати від патологій вим'я корів досить значні. Так, щорічно мастит реєструється приблизно у 30 тис. корів, внаслідок чого господарства недоотримують до 12 тис. л молока [84]. Слід відмітити, що співвідношення клінічного до субклінічного маститу становить 1:1,7, 1:2 [99].

Перед виконанням експериментальної частини роботи ми провели моніторинг поширення клінічного і субклінічного маститу у господарствах різних форм власності Львівської області. Було виявлено до 14,5 % корів у кожному господарстві з діагностованим маститом, з них 60–91% з субклінічною формою. За даними багатьох авторів, це захворювання охоплює від 10 до 70 % стада, а 8–16 % корів хворіють 2 рази і більше впродовж лактації та наносить значних економічних збитків [19, 24, 80, 151].

У ході бактеріологічних досліджень нами виділено 105 штамів мікроорганізмів із проб молока від корів, хворих на клінічний і субклінічний мастит: 25 штамів *S. Aureus* — 23,8 % від загальної кількості виділених мікроорганізмів, *S. epidermidis* — 16 % та *E. coli* — 21 %. Решту представили *Lactobacillus spp.*, *Str. uberis*, *Enter. fecalis* та гриби роду *Candida spp.* У зв'язку з широким застосуванням профілактичних і лікувальних препаратів у господарствах промислового типу, особливого значення набуває роль збудників опортуністичних або вторинних (секундарних) інфекцій і поширення клінічного спектра їхніх проявів. Асоціативність умовно-патогенних збудників

позбавляє захворювання нозологічної специфічності, що ускладнює інтерпретацію багатьох клінічних симптомів. До потенційних збудників маститів, які заселяють молочну залозу високопродуктивних корів і можуть викликати запальний процес, відносять дріжджові грибки, більшість з яких належать до роду *Candida* [3, 109]. Змішані грибово-бактеріальні інфекції протікають значно важче й довше. Однією з причин виникнення змішаних інфекцій з участю дріжджових грибків роду *Candida* є активізація деяких видів аутофлори, що спостерігається одночасно інтенсивним розмноженням як грибів, так і основного збудника маститу, а також за умов підвищення вірулентних властивостей основного збудника. Частіше у молоці корів, хворих на мастит, виявляють не чисту культуру збудника, а комплекс з різних видів мікроорганізмів, у тому числі умовно-патогенних сапрофітів. Великий відсоток серед представників умовно-патогенної бактеріальної мікрофлори належить кишкової паличці [3, 111, 166, 167]. Власне це і було підтверджено у наших бактеріологічних дослідженнях.

Традиційна антибіотикотерапія маститів у корів давно вже доведена як не достатньо ефективна, крім того має ряд побічних ефектів. Дослідження альтернативних натуральних замінників традиційних методів лікування маститів є актуальним і практичним завданням. На сьогоднішній день активно досліджується комплексна дія таких препаратів, зокрема у нашій роботі ми проаналізували імунобіологічні та біохімічні зміни в організмі тварин при введенні у терапію субклінічного маститу препаратів на основі апіпродуктів.

При аналізі гематологічних досліджень було виявлено певні коливання цитологічних показників периферичної крові у корів хворих маститами. Відмічено високу кількість лімфоцитів у периферичній крові корів у яких діагновано мастити, яка надалі поступово знижувалася до показника $44,07 \pm 1,43$ %. Зафіксоване зменшення кількості сегментоядерних нейтрофілів, поступове збільшення відсотка паличкоядерних нейтрофілів, еозинофілів та базофілів, що ми розцінюємо однією з ознак реактивності за умов маститної патології. Захворювання корів на субклінічну

форму маститу призводить до зростання кількості лейкоцитів і зниження вмісту загального протеїну у крові. Зокрема, кількість лейкоцитів у корів дослідної групи до введення і на 3-тю добу після введення досліджуваного препарату була відповідно на 41,4 ($p < 0,01$) і 32,9 % ($p < 0,05$) більша, ніж у клінічно здорових тварин.

Недноразово різними дослідниками доведено що при субклінічній формі маститу у крові знижується вміст еритроцитів та гемоглобіну на фоні зростання кількості лейкоцитів [158]. Проведені дослідження показали, що гематологічні параметри з проявом субклінічного маститу у корів на початку лактації схильні до суттєвих змін [1]. При діагнозі набряк і гіперемія вимені найбільш яскраво виражені зміни в кількості лейкоцитів. При субклінічному маститі слабовиражений (до 15 тис./Мкл) і середній (15-20 тис./Мкл) лейкоцитоз спостерігався у 29,5 %, високий (20,6–43,9 тис./Мкл) у 51,5 % тварин. При аналізі лейкограми встановлено, що загальна кількість лейкоцитів при набряку і гіперемії вимені, а також при субклінічному маститі достовірно вища в порівнянні з клінічно здоровими тваринами. Найбільш часто відзначали збільшення кількості нейтрофілів, які представлені двома основними видами — палочкоядерним і сегментоядерними.

Нейтрофілія характерна для гострих інфекційних захворювань, інтоксикації та інших станів, що супроводжуються накопиченням продуктів клітинного і тканинного розпаду. Як у випадку набряку і гіперемії, так і при подразненні вим'я дані показники не відображають будь-яких особливостей перебігу захворювання і не мають закономірностей, характерних для даної патології. Лейкоцитарний профіль крові корів при набряку і гіперемії вимені зазнає істотних відхилень. Крім того, при патологічному процесі в матці корів у післяпологовий період проявляється яскраво виражена еозинофілія і лімфоцитоз. Кількість лімфоцитів збільшується в 1,3 раза при набряку і гіперемії вимені і 1,8 раза при субклінічному маститі ($p < 0,01$). Вміст моноцитів зростає в 1,7 і 2,8 раза відповідно.

Проведені дослідження кількісного складу окремих компонентів клітин білої крові свідчать про яскраво виражену напруженість системи природного захисту організму корів, у яких виявлено мастити. Істотні зміни числа лейкоцитів виявлено як при набряку і гіперемії вимені (в 1,3 рази), так і при субклінічному маститі (в 1,5 раза) в порівнянні з клінічно здоровими тваринами (при $p < 0,01$ і $p < 0,05$).

Отримані нами дані свідчать про виражений лейкоцитоз при запальних процесах вимені корів після отелення незалежно від форми його виникнення.

Інтрацистернальне введення препарату «Антимаст» сприяло зменшенню загальної кількості лейкоцитів, особливо на 9-ту добу від початку лікування. У корів дослідної групи до лікування вміст загального протеїну у сироватці крові був на 16,4 % менший ($p < 0,01$), ніж у корів контрольної групи. Введення коровам дослідної групи досліджуваного препарату спричиняло зростання вмісту загального протеїну у сироватки крові. На 3-тю і 9-ту доби від початку лікування у корів дослідної групи вміст загального протеїну був менший, ніж у контролі, проте різниці були невірогідні.

Вивчення змін метаболічного гомеостазу організму корів, хворих на субклінічну форму маститу, має важливе значення для оцінки їх фізіологічного стану. Надходження токсичних речовин з первинних вогнищ ураження та їх перерозподіл з течією лімфи та крові в органах і тканинах організму зумовлюють генералізацію ендотоксикозу. Тому раннє виявлення біохімічних маркерів ендогенної інтоксикації за умов розвитку даного патологічного процесу може слугувати прогностичним фактором розвитку захворювання. Як інформативний тест ступеня ендогенної інтоксикації організму використовують рівень продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Реактивні форми кисню, як зазначалось, є кінцевими продуктами інтенсивного клітинного метаболізму. Коли відбувається порушення гомеостазу, окисні процеси ведуть до оксидативного стресу, що викликає інфікування молочних залоз (різні форми маститу) у високопродуктивних корів.

Проведеними дослідженнями вдалось довести, що захворювання корів на субклінічну форму маститу веде до зростання інтенсивності процесів ПОЛ. Зокрема, вміст ТБК-активних продуктів, які є кінцевими продуктами ПОЛ, у плазмі крові хворих корів до введення препарату був на 9,57 % ($p < 0,05$) вищий, ніж у тварин контрольної групи. Триразове інтрацистернальне введення коровам в уражені чверті молочної залози препарату «Антимаст» спричиняло зниження ($p < 0,01$) вмісту ТБК-активних продуктів і гідроперекисів ліпідів у плазмі крові, особливо на 9-ту добу після введення, порівняно із рівнем, зафіксованим на 1-шу добу експерименту.

Експериментально доведено, що у корів з ознаками маститу відзначалось вірогідне зниження загальної антиоксидаційної активності (ТАА) каталази ($p < 0,05$), відновленого глутатіону, як і рівня вільних Цинку і Заліза. Водночас було зафіксоване вірогідне підвищення вмісту МДА, нітрит оксиду, інтерлейкіну-6 та фактору некрозу клітин – α , активності СОД та індексу оксидативного стресу. У хворих тварин спостерігалась негативна кореляція між вмістом ТБК-активних продуктів і інтерлейкіном-6 ($r = -0.860$), та глутатіонредуктазою і інтерлейкіном-6 ($r = -0.928$). Низкою дослідників доведено, що у корів з вираженими ознаками маститу одними із найвірогідніших діагностичних показників порушення метаболізму і пошкодження тканин є показники окисного стресу, антиоксидантного захисту та запальних інтерлейкінів [199].

На 3-тю добу після інтрацистернального введення «Антимасту» спостерігалось різке зниження вмісту альдегідних похідних окиснення протеїнів у крові корів хворих субклінічною формою маститу ($p < 0,001$). На 9-ту добу після початку лікування рівень ОМП₃₇₀ дещо зріс і стабілізувався на фізіологічному рівні. Вміст кетонів похідних на 3-тю добу лікування знизився на 25 %, а на 9-ту на 22,5 % порівняно із значення цього показника у крові хворих тварин до початку лікування.

Ці дані свідчать про інгібуючий вплив складових препарату «Антимаст» на вміст проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ, рівень яких значною мірою

регулюється ферментативною та неферментативною ланками САЗ, яка захищає клітини і організм в цілому від токсичної дії радикалів кисню та пероксидів ліпідів, а також знешкоджує токсичні продукти, що спричинюють мембранодеструктивну дію. Порушення окисно-антиоксидантного балансу призводить до оксидативного стресу, що характеризується значним прискоренням процесів ПОЛ, накопиченням вільних радикалів на тлі зниженої активності системи антиоксидантного захисту.

Активність супероксиддисмутази була вірогідно нижчою перед початком лікування у хворих тварин і становила $18,46 \pm 0,36$ (од.акт./мг білка) ($p < 0,001$) порівняно до показника здорових корів $22,19 \pm 0,59$ (од.акт./мг білка). Крім того у корів хворих субклінічним маститом спостерігалось вірогідне зниження активності каталази до $54,44 \pm 1,34$ (мкмоль/хв·мг білка) порівняно із цим показником у крові здорових тварин $65,21 \pm 1,19$ (мкмоль/хв·мг білка) ($p < 0,001$).

Інтрацистернальне введення хворим коровам дослідного препарату підвищувало рівень активності ензимів на 3-тю добу від початку лікування, а на 9-ту добу спостерігалось статистично вірогідне зростання активності СОД і каталази на 25 % порівняно до показників перед початком лікування.

Зниження вмісту продуктів ПОЛ та ОМП у крові корів, хворих на приховану форму маститу, можна пояснити комплексною адитивною дією складників досліджуваного препарату та проявом їх стимулювального впливу на захисні системи організму. Препарат містить близько 240 біологічно активних речовин — білки, вуглеводи, жирні кислоти, вітаміни, лецитин, макро- та мікроелементи, ензими, амінокислоти, поліфенольні сполуки, що безпосередньо проявляють потужний антиоксидантний вплив та здатні опосередковувати активацію ендогенних захисних механізмів.

Численними дослідженнями встановлено, що виникнення будь-якого запального процесу прямо залежить не лише від наявності збудника та його вірулентності, а й від реактивності організму, тобто здатності його протидіяти інфекції. [33]. Підвищення активності процесів вільнорадикального окиснення

у фізіологічних умовах розглядається як адаптаційна реакція організму на дію стресових факторів [185, 283]. У наявній літературі нами не виявлено даних про роль ПОЛ у корів під час запуску та сухостою, а це важливий період для повноцінного відпочинку і регенерації секреторних клітин паренхіми вимені, одержання повноцінного молозива, життєздатного здорового приплоду та оптимальної продуктивності в наступну лактацію. Перебудова тканини молочної залози у період запуску та сухостою призводить до зниження її природної резистентності і за наявності інфекційного фактору або прихованого запального процесу може привести до появи клінічних маститів [161].

Так, субклінічні мастити у період запуску (при останньому доїнні) діагностуються у 12–45 % випадках, у період сухостою — 12–37 % та після родів — у 20–25 % [161]. Клінічна форма маститу в корів у період сухостою виявляється у 9,3 % випадках, а після родів на початку лактації їх кількість зростає до 54,5 % [51]. Зміна фізіологічного стану супроводжується певними змінами інтенсивності ліпідного обміну. В процесі лактації відбувається поступове зростання кількості продуктів перекисного окиснення ліпідів. Так, у період запуску рівень дієнових кон'югатів збільшувався в 1,3 раза ($p < 0,01$), а малонового діальдегіду — в 1,5 раза ($p < 0,001$). Посилене утворення продуктів ПОЛ свідчить про меншу активність антиоксидантної системи, на що вказує зменшення активності каталази в 1,2 раза ($p < 0,05$). Тенденцію до зниження інтенсивності процесів ПОЛ та активації антиоксидантного захисту в сухостійний період, очевидно, можна пояснити завершенням інволюційних процесів у молочній залозі.

Нанесення мазі «Антимаст» на вим'я корів за запропонованою схемою лікування сприяло зниженню інтенсивності процесів окиснення як ліпідів так і протеїнів, що підтверджує здатність біологічно активних компонентів препарату знижувати перекисидацію і активувати захисні механізми антиоксидантної системи. Дія мазі була менш вираженою, але мала пролонгований характер, зниження вмісту продуктів ПОЛ у корів дослідної

групи — на 9-ту добу від початку лікування вміст ТБК-активні продуктів та ГПЛ був нижчим на 8,49 та 25,00 % відповідно ($p < 0,05$).

Активність глутатіонпероксидази у крові корів дослідної групи до лікування та на 3-тю добу після початку лікування була нижча, а на 9-ту добу більша, ніж у тварин контрольної групи. Аналогічні зміни спостерігаємо у корів дослідної групи й за вмістом відновленого глутатіону. Отримані дані підтверджують антиоксидантну та детоксикаційну дію складових досліджуваного препарату.

Склад молока, як секрету ушкодженої субклінічним маститом молочної залози є індикатором розвитку запального процесу, тому на наступному етапі було проведено оцінку окисних процесів та фізико-хімічних показників молока тварин та ефективність застосування ін'єкцій апіфітопрепарату на нормалізацію згаданих показників. У результаті проведених досліджень з'ясовано, що у тварин з ознаками маститу до початку лікування у молоці вміст похідних ОМП₃₇₀ та ОМП₄₃₀ був вищим у 2,36 і 2,38 рази ($p < 0,05$; $p < 0,01$) відповідно порівняно з показниками молока корів контрольної групи. Введення досліджуваного препарату викликало зниження інтенсивності окисних процесів, що виявилось у вірогідному зменшенні вмісту в молоці корів дослідної групи альдегідних похідних на 3-тю добу після початку лікування від значення $16,08 \pm 1,45$ (нмоль/мг білка) до $9,73 \pm 1,13$ (нмоль/мг білка), а на 9-ту добу — $5,34 \pm 0,75$ (нмоль/мг білка) ($p < 0,01$; $p < 0,001$). Аналогічні зміни зафіксовано у вмісті кетонових похідних.

Очевидно, що застосування досліджуваного способу лікування маститу у корів, сприяло пролонгованому зниженню інтенсивності окисних процесів, що відображалось зниженням похідних окисної модифікації протеїнів у молоці тварин. Це зумовлено як стимулюючою дією компонентів препарату (як у вигляді ін'єкцій, так і у формі мазі), так і його впливом на активність ендогенних захисних механізмів в організмі. Дослідження активності СОД показало на 3-тю та 9-ту доби від початку лікування тенденцію до її зростання у

молоці тварин дослідної групи порівняно із показниками цих тварин на початку дослідю.

До теперішнього часу основними засобами для лікування хворих на мастит тварин залишаються препарати на основі антибіотиків. У нашій країні застосовують в основному антибіотики, розроблені у попередні роки, ефективність яких недостатньо висока. За кордоном основним напрямком у боротьбі з маститом є використання препаратів на основі високоефективних антибіотиків нових поколінь (наприклад, цефалоспоринів), до яких у збудників маститу ще не виробилася стійкість [11, 88, 103].

Однак, незважаючи на постійне вдосконалення засобів і методів боротьби з маститом, запалення молочної залози в останні роки залишається найпоширенішим захворюванням у корів на молочних фермах і комплексах у всьому світі. За даними Міжнародної молочної федерації, повідомленнями Європейської асоціації тваринників і багатьох вітчизняних і зарубіжних дослідників клінічна форма маститу діагностується в низці випадків у 20–25 % і більше корів, а субклінічна — більш ніж у 50 % корів у стаді, причому дана форма маститу може зберігатися протягом двох лактацій за відсутності своєчасного та ефективного лікування [9, 10, 101, 228].

Застосування апіфітопрепаратів для лікування різних форм інфекційних патологій набирає популярності у гуманній та ветеринарній медицині. Проте даних про особливості використання препаратів на основі апіпродуктів на інтенсивність окисних процесів у корів з ознаками субклінічної форми маститу не так багато. Дані літератури не розкривають шляхи корекції змін метаболізму за допомогою препаратів на основі бджолиних продуктів, які містять цілий набір речовин із біоантиоксидантною дією.

З точки зору доступності, вирішення проблеми технологічного та лікарського забезпечення життєво необхідними засобами на основі природної сировини необхідної кількості і екологічної якості є продукти бджільництва. Вони дозволяють вирішити проблему створення вітчизняних високоефективних різноманітних лікарських форм (апипрепаратів) для лікування необмеженої

кількості захворювань, завдяки їх насиченому хімічному складу і широкому спектру терапевтичної активності. Фундаментальними дослідженнями вітчизняних та зарубіжних вчених доведена їх висока біологічна цінність: вони мають різнобічну фармакологічну активність (протизапальну, антимікробну, анестезуючу, антиоксидантну, імуностимулюючу, протипроменеву [69, 85].

Експериментально доведено, що прополіс володіє антиоксидантними властивостями [83; 147]. Значну частину в його складі займають біофлавоноїди та поліфенольні сполуки з антиоксидантною дією [83]. Крім цього, біофлавоноїди мають імуномодулюючі властивості. Так, встановлено, що вони зменшують клітинно-опосередковану імунну реактивність проти специфічних антигенів печінки хворих та попереджують утворення в лімфоцитах вільних радикалів [60]. Матолінець, 2000 використали у своїх дослідженнях прополіс, в якому виявили каротин, вітамін А та С, біофлавоноїди, фенольні сполуки. Введення прополісу викликало позитивні зміни стану АОС у тварин, уражених кадмієм. Спостерігалася чітка тенденція до підвищення активності КАТ у печінці та СОД під впливом прополісу поступово зростала. Очевидно, що позитивна дія прополісу обумовлена його протекторною дією на біологічні мембрани. Крім цього, може мати також значення активація під впливом прополісу синтезу ферментів АОС. Введення прополісу корегувало зміни концентрації вітамінів А та С як у крові, так і у печінці. Незначне підвищення активності ферментів глутатіонової системи під впливом прополісу, очевидно, пов'язане із-за нездатності його складовими компенсувати пригнічення компонентів цієї системи [75]. Прополіс є перспективною сировиною для створення ветеринарних препаратів антимікробної дії, оскільки він проявляє протимікробну активність по відношенню до більш ніж 100 видів бактерій, грибів, вірусів та добре комбінується з хіміотерапевтичними препаратами, підсилюючи їх дію. Біологічно активні речовини, що входять до його складу мають певну хімічну структуру і за різними механізмами діють на мікроорганізми, що обумовлює відсутність випадків виникнення стійких до дії прополісу штамів. Проведений аналіз ринку показав що, існує необхідність

створення комбінованих ветеринарних препаратів з субстанціями природного походження [49].

Наявність у складі «Антимасту» прополісу пояснює результати отримані нами щодо його дії на стан АОС, що підтверджується і літературними даними [165].

Проведеними дослідженнями встановлено стимулюючу дію «Антимасту» як у формі мазі так і формі препарату для ін'єкцій на систему антиоксидантного захисту на фоні зниження інтенсивності окисних процесів, що проявлялось зменшенням вмісту кінцевих продуктів ПОЛ і ОМП як у крові так і в молоці тварин. Зниження вмісту продуктів перекисного окиснення на фоні зростання активності антиоксидантних ензимів чітко та беззаперечно демонструє ефективність застосування препарату «Антимаст» для корекції метаболізму у хворих тварин, зокрема для регулювання про- та антиоксидантної рівноваги.

Оптимальне поєднання діючих речовин у складі мазі, а саме каротиноїди та вітамін Е, фенольні сполуки з прополісу та біологічно активні компоненти з обніжжя і підмору, обумовлює високу фармакологічну активність препарату, яка близька до фізіологічної дії натуральних речовин внутрішнього метаболізму. Як і інші компоненти препарату бджолиний підмор, що входить до його складу містить високоактивні сполуки із антиокисними властивостями, або сполуки здатні стимулювати антиоксидантну дію ендогенних протекторних сполук. Так, підмор багатий на флавоноїди, каротиноїди, відновлюючі вуглеводи та амінокислоти [85, 115, 130, 152, 272].

Такий склад мазі забезпечив лікувальний ефект у крові та молоці корів з ознаками субклінічної форми маститу. Застосування мазі як і інтрацистернальне введення препарату підвищувало активність СОД у молоці корів після її зниження до початку лікування.

Отже, одержані нами закономірності змін перекисного метаболізму ліпідів і протеїнів свідчать про перспективність використання їх в якості лабораторних маркерів, що застосовуються в діагностично-прогностичних

цілях та оцінці результатів лікування при субклінічній формі маститу. Зниження природної резистентності, зміни активності ПОЛ та антиоксидантної системи в період інфікування свідчить про низький рівень захисту організму корів від клітинної деструкції. Встановлено, що використання натуральних апіфітопрепаратів спрямованої дії дозволило корегувати інтенсивність окисних процесів та відновити і підтримувати рівень захисних антиоксидантних механізмів на фізіологічно необхідному рівні без надмірного вичерпання ендогенних резервів.

Прополіс володіє антиоксидантними властивостями [83, 146]. Значну частину в його складі займають біофлавоноїди та поліфенольні сполуки з антиоксидантною дією [83]. Крім цього, біофлавоноїди мають імуномодулюючі властивості. Так, встановлено, що вони зменшують клітинно-опосередковану імунну реактивність проти специфічних антигенів печінки хворих та попереджують утворення в лімфоцитах вільних радикалів [60]. Вміст ЦІК у тварин за дії прополісу зазнавав зниження. Нормалізуючий вплив прополісу, очевидно, зв'язаний із здатністю активізувати імунокомпетентну лімфоїдну тканину. Крім прямої дії на імунітет, прополіс діє опосередковано, впливаючи на функціональний стан печінки, роль якої у створенні імунологічної реактивності достатньо велика [114, 147].

Лімфоцити є головними імунокомпетентними клітинами організму. Вони є носіями імунологічної пам'яті та попередниками антитілоутворюючих клітин. Їх роль значною мірою характеризує вміст Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у периферичній крові тварин. Активація лімфоцитів представляє собою складний біохімічний процес, який пов'язаний з розпізнаванням антигену і відбувається безпосередньо за участю наявних на мембранах лімфоцитів специфічних антигенних рецепторів. Розпізнавання антигену імунокомпетентними клітинами є центральним моментом запуску та регуляції імунної відповіді [91].

Констатовано, що у корів, хворих на мастит з субклінічною формою перебігу, клітинна ланка імунної системи реагувала збільшенням ($p < 0,05-0,01$)

абсолютної кількості лейкоцитів і зниженням ($p < 0,05-0,01$) відносної кількості та функціональної активності Т-лімфоцитів і їх регуляторних субпопуляцій за рахунок перерозподілу рецепторного апарату імунокомпетентних клітин.

Інтрацистернальне введення коровам дослідної групи препарату «Антимаст» сприяло зменшенню кількості лейкоцитів у крові. Так, на 9-ту добу після введення препарату кількість лейкоцитів у крові зменшилась ($p < 0,05$) і була на рівні тварин контрольної групи. У корів дослідної групи на 3-тю добу після введення препарату спостерігали зростання загальної кількості Т- і В-лімфоцитів у крові до рівня величин цього показника у клінічно здорових тварин. Загальна кількість Т-лімфоцитів (активних і теофілін-резистентних) і В-лімфоцитів у крові корів дослідної групи на 9-ту добу після введення препарату була більша ($p < 0,05-0,01$), ніж у контрольній. При цьому, кількість Th-РУЛ і ЕАС-РУЛ з низькою щільністю рецепторів у крові корів дослідної групи була більша ($p < 0,01$), а «нульових», недиференційованих у функціональному відношенні клітин — менша ($p < 0,01$), порівняно до контролю.

Таким чином, отримані результати досліджень свідчать, що після лікування корів, хворих на мастит з субклінічною формою перебігу, настає зниження абсолютної кількості лейкоцитів, і вірогідне підвищення відносної кількості Т- і В-лімфоцитів крові та їх функціональної активності. Ці зміни, ймовірно, обумовлені комплексною стимулювальною дією складників препарату на процеси активації, кооперації і диференціації імунокомпетентних клітин у формуванні імунної відповіді в організмі корів, хворих на СМ. Лімфоцити — основна категорія імунокомпетентних клітин, які реагують не на будь-які антигени, а лише на ті, з якими організм зустрічався. Мабуть, цим і можна пояснити зростання їх кількості у крові корів за умов використання досліджуваного препарату, і, зокрема прополісу бджолиного у його складі, який бактерицидно діє на патогенну мікрофлору, ураженої молочної залози [21, 22]. Поряд з цим необхідно зауважити позитивний вплив препарату на функціональну активність імунокомпетентних клітин, що обумовлено

версифікованим впливом біологічно-активних сполук у його складі на рецепторний апарат Т- і В-лімфоцитів крові.

Фагоцитоз є одним з найважливіших факторів структурного та імунного гомеостазу, який спрямований на збереження сталості внутрішнього середовища організму. Цей процес об'єднує різні клітинні реакції в напрямку розпізнавання об'єкта фагоцитозу, його знешкодження та видалення з організму [68, 72, 76, 97, 358]. Проведеними дослідженнями встановлено, що фагоцитарна активність гранулоцитів у крові корів із діагностованим субклінічним маститом є вищою, ніж у здорових тварин контрольної групи. При цьому зафіксоване зниження фагоцитарного індексу (ФІ) і зменшення кількості мікробних клітин, що припадає на один підрахований фагоцит (ФЧ) у хворих корів, ніж у клінічно здорових тварин.

Разом з цим спостерігали зміни такого важливого функціонального показника фагоцитарних клітин, як спонтанний НСТ-тест, який відображає активність інтралейкоцитарної бактерицидної системи — важливої ланки неспецифічної резистентності організму. Підвищення цього показника у крові хворих корів порівняно до здорових, є фактором наявності в організмі хворих корів токсичних продуктів патологічного процесу, внаслідок чого нейтрофіли не здатні до завершеного фагоцитозу.

Проте, в динаміці лікування відбувалася певна корекція фагоцитарного захисту, при чому як при застосуванні інтрауцистернального препарату так і при нанесенні мазі з одночасним масажем вимені. Так, вже на третій день курації реактивність фагоцитарних клітин поступово знижувалась і ця тенденція зберігалась до кінця проведеного лікування, що вказувало на повне згасання запальної реакції, крім того зростав фагоцитарний індекс та фагоцитарне число.

Таким чином підтверджено, що між інтенсивністю спонтанного НСТ-тесту і здатністю клітин до завершеного фагоцитозу існує обернена залежність. У корів дослідної групи на 3-тю добу після введення препарату «Антимаст» цей показник був у 1,6 разу більшим, ніж у корів контрольної групи, проте до 9-ої

доби досліджу знижувався до рівня нормативних величин, і різниці порівняно до початку лікування були вірогідні ($p < 0,05$).

При застосуванні мазі показник НСТ-тест вже на 3-тю добу суттєво знизився і на період закінчення лікування він був вірогідно нижчим, ніж перед його початком. Позитивна динаміка покращення показників природної резистентності корів знаходиться у чіткій кореляції з терапевтичним ефектом при застосуванні обох препаратів.

Активність фагоцитозу свідчить про ступінь готовності до процесу активного поглинання клітинами організму патогенних живих і вбитих мікробів та інших чужорідних частинок з наступним їх перетравленням [2, 87]. Результати досліджень природних захисних сил організму корів показали, що використання препарату на основі продуктів бджільництва (витяжка підмору разом з трутневим розпадом) сприяло підвищенню фагоцитарної активності нейтрофілів крові [38]. Також отримані нами результати свідчать проте, що композиційний препарат на основі продукції бджільництва підвищує бактерицидну і лізоцимну активність сироватки крові. Схожі результати зафіксували і інші дослідники [60]. Застосування апіпродуктів (водно-спиртовий розчин прополісу, перги і підмору) підвищувало імунний статус організму кроликів, який виражався в показниках його природної резистентності [25].

В останні роки в багатьох країнах світу почали широко застосовувати апіпрепарати. Незважаючи на безумовне лідерство в наукових дослідженнях і потенційні можливості виробництва біологічно активних продуктів бджільництва, Україна в даний час сильно відстала від багатьох зарубіжних країн як в обсягах заготівлі та переробки цих продуктів, так і в масштабах впровадження їх в практику. Якщо у Франції, Італії, Китаї, Японії, Іспанії та інших країнах розроблені і застосовуються вже сотні лікарських форм продуктів бджільництва, то в нашій країні їх не так багато [69, 419].

У невеликій концентрації імунні комплекси постійно присутні в сироватці крові здорових тварин, яка вважається як нормальна, це є наслідком

постійної стимуляції імунної системи. Проте, в окремих випадках механізм виведення ЦІК порушується, що призводить до надмірного накопичення циркулюючих імунних комплексів і обумовлює патологію [63, 311].

Субклінічний запальний процес у молочній залозі корів проявлявся зниженням рівня напруженості бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові. Проведені дослідження виявили надмірне антигенне навантаження та накопичення метаболітів запалення в організмі хворих корів, що виражено у суттєвому збільшенні кількості циркулюючих імунних комплексів ($p < 0,01$).

Лізоцим відносять до найважливіших факторів природної резистентності, який має властивості лізувати клітини мікроорганізмів. Він здатний, з одного боку, як фермент розщеплювати полісахариди клітинної стінки, а з другого – мобілізувати інші неспецифічні фактори захисту [87].

Результати досліджень концентрації ЦІК показали, що у корів, хворих маститом, відмічається підвищений їх рівень переважно за рахунок найбільш патогенних середніх імунних комплексів. При субклінічному перебігу маститу у корів в сироватці крові найбільше виявлено середніх ЦІК. Їх кількість у 11,7 раза перевищувала показники здорових тварин. Дрібних ЦІК було більше у 1,1 раза. Фагоцитарна активність нейтрофілів крові корів, хворих маститом з субклінічним перебігом, була відповідно на 10,2 % вищою порівняно з контрольними. Індекс фагоцитозу в корів, хворих на субклінічний мастит, мав тенденцію до підвищення [65].

Як зазначалось вище доведено, що препарати на основі різних комбінацій апіпродуктів виявляють дію на різні компоненти імунної системи. Не винятком є і показники гуморальної ланки.

Так, у подальших наших дослідженнях відзначено зростання напруженості бактерицидної активності сироватки крові у тварин дослідної групи на 9-ту добу після інтрацистерального введення препарату ($p < 0,05$), а також тенденцію до зростання лізоцимної активності сироватки крові корів. Концентрація ЦІК у сироватці крові тварин дослідної групи на 9-ту добу

експерименту вірогідно зменшилась. Причому позитивна динаміка рівня загаданих показників імунітету спостерігалась як при застосуванні інекційного препарату так і при нанесенні мазі у комплексі з масажем вимені.

Отримані нами дані свідчать проте, що наявність у складі мазі фенольної фракції прополісу, ефіро-олійних сполук з живиці соснової та меду бджолиного надають їй протимікробних властивостей.

Доведено, що ЦІК мають невеликий розмір, які утворювалися при надлишку антигену, і вони не активують комплемент і не викликають запальний процес. ЦІК, які утворилися при надлишку антитіл мають високу патогенність, хоч і здатні активувати комплемент, і мають великий розмір. Найбільш патогенними є ЦІК середніх розмірів, які утворюються при незначному надлишку антигену, здатні активувати комплемент і слабо елімінуються. Проблемі вивчення імунних комплексів в даний час приділяється багато уваги, тому що постійно зростає кількість захворювань, в патогенезі яких вони відіграють суттєве значення [311, 116].

Антибактеріальна, імуностимулююча та протизапальна активність неспиртової композиції прополісу має потенціал для поступового заміщення внутрішньом'язових антибіотиків, що може призвести до зниження загального використання антибіотиків у тваринництві. Однією з переваг також може бути зниження поширеної резистентності до протимікробних препаратів, глобальних проблем, що загрожують здоров'ю та життю людей та тварин.

Мастит, крім локальних змін у молочній залозі, зумовлює зміни в багатьох системах та органах організму корів, насамперед морфологічного складу крові. Негативна дія стрес-факторів на тварин супроводжується зниженням клітинних і гуморальних показників резистентності [290].

Головною функцією імунної системи є розпізнання та знешкодження сторонніх речовин з метою підтримання гомеостазу організму, який має свою генетично обумовлену індивідуальність у кожної тварини. Отже, організм має

багатоступеневу систему захисту від шкідливих агентів, які утворюються в його тканинах, або ж проникають із зовнішнього середовища [55, 353].

Лімфоцити є головними імунокомпетентними клітинами організму. Вони є носіями імунологічної пам'яті та попередниками антитілоутворюючих клітин. Їх роль значною мірою характеризує вміст Т- і В-лімфоцитів та їх субпопуляцій у периферичній крові тварин. Активація лімфоцитів представляє собою складний біохімічний процес, який пов'язаний з розпізнаванням антигену і відбувається безпосередньо за участю наявних на мембранах лімфоцитів специфічних антигенних рецепторів. Розпізнавання антигену імунокомпетентними клітинами є центральним моментом запуску та регуляції імунної відповіді [356].

З даних літератури відомо, що за дії стрес-факторів у корів, хворих на мастит, зменшується кількість лімфоцитів у крові й підвищується рівень кортизолу в плазмі крові. Виникнення маститу залежить не лише від хвороботворного агента та його потенційної здатності викликати патологічний процес, а й значною мірою від імунобіологічної реактивності організму тварини [384, 392]. Крім цього, субклінічний мастит тривалий час залишається непомітним і молоко від хворих корів може потрапити в загальний надій, у результаті чого погіршуються технологічні властивості молока і знижується якість вироблених із нього молочних продуктів. Присутність у молоці навіть залишкової кількості антибактеріальних препаратів негативно впливає на технологічні властивості молока [384, 392].

Дослідження фізико-хімічного складу секрету молочних залоз як показників локального ураження у корів з субклінічною формою маститу є важливим діагностичним показником ефективності і доцільності обраного лікування [270].

У молоці тварин дослідної групи відзначено суттєве збільшення кількості соматичних клітин, а на 9-ту добу від початку лікування їх рівень

вірогідно знижувався порівняно до 1-ої доби експерименту, що свідчить про сприятливий вплив застосованого лікування.

У хворих на субклінічний мастит корів, збільшується кількість соматичних клітин (переважно лейкоцитів), білків, хлоридів, підвищується лужність, щільність, бактеріальне забруднення, зменшується вміст жиру, лактози, знижується його бактерицидна активність. Ці зміни, за затвердженням ряду дослідників [13, 249] ведуть до зміни властивостей і смакових якостей молока, тому таке молоко втрачає свою поживну цінність і технологічні властивості, необхідні для виробництва. При використанні такого продукту збільшується захворюваність і загибель новонароджених телят, можливість розвитку алергічних реакцій і харчових отруєнь у людей.

При детальному лабораторному дослідженні фізико-хімічних показників молока корів із субклінічним маститом виявлено тенденцію до зниження вмісту жиру ($3,15 \pm 0,11$), білка ($2,78 \pm 0,15$) та лактози ($4,45 \pm 0,18$) порівняно до їх значення у клінічно здорових тварин. При цьому зафіксовано зменшення сухого знежиреного молочного залишку (СЗМЗ) на 8 % і показника густини на 11 % ($p < 0,05$), що було однією із причин порушення секреторної функції лактоцитів альвеол молочної залози [162]. Інтрацистернальне введення коровам препарату «Антимаст» зумовлювало нормалізуючий вплив на досліджувані фізико-хімічні показники молока у хворих корів.

У другому досліді, як і у першому, у молоці хворих тварин, зафіксовано зниження вмісту жиру, білка, лактози та сухого знежиреного молочного залишку. З 3-ої доби від початку застосування мазі у молоці корів встановлено тенденцію до зростання вмісту жиру, а на 9-ту добу він становив $3,18 \pm 0,13$ % порівняно з показником на 1-шу добу експерименту $2,55 \pm 0,65$ %. Подібні зміни констатовано при визначенні вмісту СЗМЗ і лактози — їх значення у молоці тварин дослідної групи мали тенденцію до зростання.

За результатами досліджень інших авторів встановлено зменшення масової частки жиру у молоці корів, хворих на субклінічну форму маститу, та сухого знежиреного молочного залишку в осінньо-зимовий та весняний

періоди. Масова частка білка у молоці хворих тварин, мала тенденцію до незначного підвищення за рахунок зростання вмісту сироваткових білків. У результаті зміни кількісного співвідношення між складовими частинами молока встановили зниження густини молока до $1,0235 \text{ г/см}^3$ [82, 123].

Показано, що відсоток вмісту жиру у хворих маститом корів знижувався з $(4,09 \pm 0,06)$ у молоці неінфікованих тварин до $(3,81 \pm 0,17)$ у молоці хворих корів, що узгоджується як з нашими результатами так і з даними інших авторів [82].

Відзначено незначне зниження вмісту у молоці корів із маститом лактози, яка синтезується у залозистих клітинах вимені із глюкози і галактози, але впродовж інфікування секреторна активність знижується за рахунок деструкції епітеліальних клітин молочної залози лейкоцитами [82]. Такі зміни можуть бути пов'язані із умовами годівлі, утримання та віком. В цілому ці результати підтверджуються нашими дослідженнями.

Соматичні клітини відіграють захисну протиінфекційну роль у молочних залозах корів як частина фізіологічного протекторного механізму, тому показник кількості цих клітин є визначальних для діагностики інфекційних порушень [117, 119, 122]. Зростання їх вмісту свідчить про інфікування тканин залози, за яким може слідувати зростання кількості лейкоцитів у відповідь на розвиток запального процесу [42]. Показано також вірогідне зниження вмісту соматичних клітин у тварин із субклінічним маститом при використанні трьох різних фітопрепаратів спрямованої дії [308].

Відомі мазі та емульсії для лікування маститів: «Мастисан А», «Мастисан В», крем-емульсія ДЕ та інші. В усіх цих препаратах діючими речовинами є ті чи інші антибіотики синтетичного походження. Тому вони не в повній мірі відповідають сучасним вимогам терапії маститів через свою вузьку специфічність дії. Серед натуральних засобів лікування маститів відомою є мазь — «Лекасептол» виробництва фірми «Лек» (Словенія). Основними діючими речовинами в ній є ефірні сполуки з рослинної сировини (евкаліпту, мускатного горіху, кедру, листя лавру) та хлорофіл. Завдяки такій комбінації

біологічних сполук мазь має виражену протизапальну, антисептичну та протинабрякову дію. До недоліків цього засобу можна віднести однотипний набір на низький вміст біологічно активних сполук, що значно обмежує спектр її дії щодо етіологічних факторів маститів. Найбільш близьким за складом до засобу, який досліджувався, є фармацевтичний апіфітопрепарат для лікування раневих поверхонь [Патент РФ № 2036653, кл. А61К35/64, 9/06, 1995], який містить обніжжя бджолине, касторове масло, мед, прополіс, живицю соснову та вершкове масло. Але цей засіб має недостатню фармакологічну активність. Біологічна дія обніжжя бджолиного стримується наявністю міцної оболонки клітин квіткового пилку. Дослідження свідчать, що в лікарських засобах доцільно використовувати біологічно активні витяжки апіпродуктів.

Кількість соматичних клітин, що була значно вищою у молоці хворих тварин після нанесення мазі вірогідно знижувалась порівняно із початковим етапом дослідження, що вочевидь пов'язане із проникнення безпосередньо крізь шкірні покриви біологічно активних компонентів мазі, та завдяки вдалій композиції олій у її складі.

Відомо, що у молоці (секреті) уражених долей вим'я збільшується кількість соматичних клітин, білку, хлоридів, лужність, густина, бактеріальне забруднення і зменшується вміст жиру, лактози, сухих знежирених речовин, знижується бактерицидна активність. При лікуванні тварин, у молоці виявляють інгібуючі речовини. Молоко втрачає поживну цінність і технологічні властивості, які необхідні для виробництва молочнокислих продуктів і сирів. Згодовування такого молока новонароджених телят приводить до збільшення їх захворюваності, а іноді і загибелі, а споживання такого молока людиною нерідко супроводжується розвитком алергічних реакцій і харчових токсикозів. Технологічний процес обробки (включаючи і пастеризацію) не забезпечує повного знищення мікроорганізмів і їх токсинів [91, 125, 159].

Відомі натуральні препарати на основі рослинної сировини, що при нанесенні на уражену молочну залозу дають позитивні результати в лікуванні, та покращують фізико-хімічний склад молока, знижують вміст соматичних

клітин у ньому[189, 428]. Всі ці дані підтверджують і результати отримані нами.

На фоні нормалізації більшості показників імунного та антиоксидантного захисту, оптимізації інтенсивності оксидних процесів і складу молока нами було зафіксоване також 100 % одужання тварин із субклінічною формою маститу при застосуванні ін'єкцій препарату та 86 % при нанесенні мазі з одночасним масажм вимені. Вище уже згадувалось, що застосування іншими авторами апіфітопрепаратів у хворих маститами корів з терапевтичною метою показало схожі результати і досить високу ефективність при відсутності негативного впливу на склад та якість молока.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі на основі біохімічних, гематологічних, фізико-хімічних і аналітично-статистичних досліджень проаналізовано зміни показників імунобіологічної реактивності й антиоксидантного потенціалу організму корів за субклінічної форми маститу. Показано ефективність застосування апіфітопрепарату «Антимаст» у формі емульсії для інтрацистернального введення та мазі для зовнішнього застосування, з метою відновлення метаболічного гомеостазу організму та підвищення імунного потенціалу корів.

1. Субклінічний мастит корів супроводжувався змінами гематологічних показників та імунобіологічної реактивності організму, про що свідчить зростання кількості лейкоцитів і зниження місту загального протеїну у крові хворих тварин ($p < 0,01$). Виявлено зниження фагоцитарного індексу, фагоцитарного числа, рівня бактерицидної ($p < 0,05$) і лізоцимної активності сироватки крові, підвищення спонтанного НСТ-тесту ($p < 0,05$) та вмісту циркулюючих імунних комплексів ($p < 0,01$).

2. У крові хворих на субклінічний мастит тварин зафіксовані зрушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, а саме – зростання вмісту ТБК-активних продуктів на 9,6 % ($p < 0,05$), гідроперекисів ліпідів на 4,4 %, альдегідних і кетонних похідних окисної модифікації протеїнів на 14,7 і 20,2 % відповідно на тлі зниження активності ензимів антиоксидантної ланки захисту.

3. Запропонована схема лікування корів при субклінічному маститі з використанням емульсії і мазі «Антимаст» позитивно вплинула на відновлення гематологічних показників та імунобіологічного статусу. Виявлено зменшення у крові кількості лейкоцитів ($p < 0,05$), збільшення Т-лімфоцитів (активних і теофілінрезистентних) і В-лімфоцитів та підвищення їх функціональної активності ($p < 0,05–0,001$).

4. Констатовано нормалізуючий вплив препарату на показники фагоцитозу: зниження фагоцитарної активності нейтрофілів крові, підвищення

їх поглинальної здатності та зниження спонтанного НСТ-тесту ($p < 0,05$). Відзначено зростання ($p < 0,05$) напруженості бактерицидної активності сироватки крові у хворих тварин на 9-ту добу після інтрацистернального введення препарату та зниження ($p < 0,05$) вмісту ЦІК у сироватці крові.

5. Застосування апіфітопрепарату «Антимаст» у формі емульсії для інтрацистернального введення спричиняло зниження у крові корів вмісту ТБК-активних продуктів і гідропероксидів ліпідів. При цьому рівень альдегідних похідних окисної модифікації протеїнів зменшувався на 57,6 ($p < 0,001$) та 36,3 % ($p < 0,01$) відповідно на 3-тю та 9-ту доби експерименту, а кетонових — на 25,2 ($p < 0,001$) і 22,5 % ($p < 0,001$).

6. Інтрацистернальне введення апіфітопрепарату «Антимаст» і застосування мазі мали антиокисний ефект у молоці корів, хворих на субклінічну форму маститу, про що свідчить зниження вмісту продуктів окисної модифікації протеїнів з одночасним підвищенням супероксиддисмутазної активності ($p < 0,01$ – $0,001$).

7. Застосування апіфітопрепарату «Антимаст» у формі емульсії та мазі сприяло зменшенню кількості соматичних клітин у молоці корів на 53,7 та 47,9 % відповідно, порівняно з показником до початку лікування ($p < 0,001$).

8. Запропонований протимаститний препарат на основі бджолиної сировини показав високу ефективність в обох досліджуваних формах, з перевагою апіфітопрепарату «Антимаст», введеного інтрацистернально (94 % видужання за введення емульсії проти 86 % за умов застосування мазі).

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

Для лікування корів, хворих на субклінічну форму маститу, рекомендується застосовувати високоефективний, екологічно чистий апіфітопрепарат «Антимаст» шляхом введення його інтрацистернально в уражені чверті вимені тричі з інтервалом 24 години по одному шприцу-тубі (13 мл) або використовувати мазь «Антимаст» упродовж семи діб у комплексі з масажем вимені.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абдессемед Далия. Субклинический мастит у коров в послеродовой период (верификация диагноза и терапия): дис. канд. вет. наук: 06.02.06. Абдессемед Далия; [Место защиты: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И.Вавилова»]. Саратов, 2014. 122 с.
2. Антимікробні властивості апіфітопрепаратів у формі мазей /В. О. Постоєнко, Н. А. Сенчугова, О. М. Постоєнко та ін. *Мікробіологічний журнал*. 2004. Т. 66. № 6. С. 53–57.
3. Армин Дойтц. Здоровье вымени и качество молока. К.: ООО «Аграр Медиен Украина», 2010. 174 с.
4. АС. № 1084681 СССР, МКИ G № 33/48. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях. Мирончик В. В. (СССР). № 3468369/28-13; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84, Бюл. № 13.
5. Байдевятова Ю. В., Байдевятов Ю. А. Ефективність методів терапії корів за серозного маститу. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2017. Вип. 1. С. 160–163.
6. Байдевятова Ю. В., Байдевятов Ю. А. Морфологічний склад секрету молочної залози корів, хворих на серозний мастит. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2012. Вип. 1. С. 143–146.
7. Байдевятова Ю. В. Серозний мастит корів різних порід: поширеність, діагностика, терапія та профілактика: автореф. дис. канд. вет. наук. К., 2010. 20 с.
8. Балим Ю. П. Поширення маститів у корів, розробка засобів їх профілактики та терапії з застосуванням йодофорів: автореф. дис. канд. вет. наук. Х., 2004. 19 с.

9. Балковой И. И., Стрельцов Н. М. Лазер в ветеринарной практике. *Сб. научных трудов: Квантовая терапия в ветеринарии*. Москва, 2003. С. 174–176.
10. Балковой И. И., Иноземцев В. П., Демидова Л. Д. МИЛ-терапия мастита у коров. Ж.: *Ветеринария*. 1997. № 3. С. 46–47.
11. Басс Т. М. Лекарственная устойчивость стафилококков к некоторым химиотерапевтическим препаратам. *Антибиотики*. 1977. № 6. С. 522–524.
12. Батлер Э., Дюбра О., Келли Б. Методика определения уровня восстановленного глутатиона в эритроцитах крови: методические рекомендации по дифференциальной диагностике различных форм ишемической болезни сердца с использованием определения компонентов глутатионовой, противоперекисной каталитической системы в эритроцитах крови. Одесса, 1982. С. 16–20.
13. Батраков А. Я. Лечение и профилактика маститов у коров. *Ветеринария*. 1977. № 2. С. 68–69.
14. Березовський І. В. Мікробіологічний пейзаж молока здорових та хворих на субклінічний мастит корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. Львів, 2013. Т. 15, № 3 (1). С. 28–34.
15. Бовкун Т. В., Жук Ю. В., Коваленко В. Л., Розумнюк А. В. Ефективність лікування корів, хворих на субклінічний мастит, з використанням препарату "Мастилін". *Ветеринарна біотехнологія*. 2015. № 26. С. 20–26.
16. Бовкун Т. В., Жук Ю. В., Мазур В. М. Терапевтична ефективність препарату мастилін при лікуванні маститу у корів. *Ветеринарна медицина України*. 2015. № 5. С. 16–18.
17. Бородиня В. І., Гончаренко В. Б. Ефективність лікування корів, хворих субклінічним маститом, препаратами для внутрішньоцистернального застосування. Наукові праці Південного філіалу Національного університету біоресурсів і природокористування України "Кримський агротехнологічний університет". *Сер.: Ветеринарні науки*. 2013. Вип. 151. С. 148–154.

18. Вальчук О. А. Гострий катаральний мастит у високопродуктивних корів (поширення, етіопатогенез та лікування): автореф. дис. канд. вет. наук. К., 2007. 18 с.
19. Вальчук О., Деркач С., Турчик А. Лікувальний та економічний ефект препарату Мультибай® при маститі у корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2011. Т. 13. № 4 (1). С. 30–37.
20. Вальчук О. А., Деркач С. С. Моніторинг розповсюдження маститу серед високопродуктивних корів. *Тези доп. наук. конф. проф.-викл. складу, наук, співр. та аспір. фак-ту вет. мед.* К.: НАУ. 2006. С. 22.
21. Васильев В. М. Профилактика мастита у коров. *Ветеринарная медицина*. 2004. № 11. С. 37–38.
22. Вачевский С. С., Вачевская Н. Л., Буданцев А. И. Сравнительная характеристика комплексной терапии коров при маститах. *Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: матер. Междунар. науч.-практич. конференции*. Воронеж, 2005. С. 45–48.
23. Віщур О. І., Куртяк Б. М. Вплив препарату «Антимаст» на стан системи антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2016. Т. 18. № 1 (65). Ч. 1. С. 158–163.
24. Войтюк Л. Я., Скорохід І. В. Профілактика маститів у корів – важлива умова поліпшення якості молока: методичні рекомендації. Львів. Оброшино. 2002. 13 с.
25. Ельцова А. В. Экспериментальная сравнительная оценка действия препаратов прополиса, перги и их комбинации на организм кроликов: автореф. дис. канд. биолог. наук: 03.00.13. Рязань, 2005. 129 с.
26. Дмитрів О. Я. Субклінічний мастит у корів (етіологія, патогенез, методи діагностики і профілактики): автореф. дис. канд. вет. наук. Л., 2002. 149 с.

27. Довідник лікаря ветеринарної медицини / під ред. П. І.Вербицького, П. П. Достоевського. К.: Урожай, 2004. 1280 с.
28. Дорофейчук В. Г. Лизоцимная активність сироватки крові. *Лабораторное дело*. 1986. №1. С. 28–34.
29. Дубинина Е. Е., Сальникова Л. А., Ефимова Л. Ф. Активність і изоферментний спектр супероксиддисмутази еритроцитів і плазми крові людини. *Лаб. дело*. 1983. № 10. С. 30–33.
30. Єрошенко О. В., Пінчук Н. Г., Головка А. М., Рубленко М. В. Реакція гострої фази та рівень оксиду азоту в крові корів за субклінічного маститу. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2015. Вип. 1. С. 5–9.
31. Желавський М. М. Зміна оксигеннезалежного протимікробного потенціалу фагоцитів секрету молочної залози корів за субклінічного маститу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*. 2011. Т. 13. № 4 (1). С. 124–127.
32. Желавський М. М. Зміни фагоцитарного захисту організму корів при субклінічному маститі. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*. 2010. Т. 12. № 2 (1). С. 93–96.
33. Желавський М. М., Боднар О. О., Захарова Т. В. Імунобіологічні аспекти патогенезу маститу корів (огляд літератури та власні дослідження). *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2015. Вип. 30 (2). С. 73–77.
34. Желавський М. М. Мастит корів, особливості імунного статусу та його корекція: автореф. дис. д-ра вет. наук. Л., 2013. 46 с.
35. Жук Ю. В., Любецький В. Й., Стецюра Л. Г. Застосування препарату Ріфен при лікуванні корів, хворих на мастит. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*. 2012. Т. 14. № 2 (1). С. 116–120.

36. Жук Ю. В. Сучасні підходи до лікування субклінічного маститу у корів. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2015. Вип. 7. С. 192–195.

37. Жук Ю. В., Деркач С. С., Вальчук О. А., Шевченко А. М. Терапевтична ефективність застосування FORTICEPT UDDER FORTE за маститу у корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2017. Т. 19. № 82. С. 77–81.

38. Жук Е. С. Определение оптимальной дозы композиционного препарата на основе продукции пчеловодства для коррекции общей неспецифической резистентности организма телят. *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Сборник научных трудов*. Горки, 2011. Вып. 12. Ч. 2. С. 182–189.

39. Зажарська Н. М. Етіопатогенез, симптоматична і патогенетична терапія мастита у корів: автореф. дис. канд. вет. наук. Х., 2001. 19 с.

40. Івченко В. М., Краєвський А. Й., Ярошно Я. М., Краєвський С. А. Мікробна контамінація вим'я корів при маститі. *Ветеринарні науки. Зб. наук. праць Луганського НАУ*. 2007. 78/101. С. 247–250.

41. Касянчук В. В., Микитюк П. В., Олійник Л. В. Ветеринарно-санітарна експертиза з основами технології переробки продуктів тваринництва. Вінниця: Нова книга, 2007. С. 405–409.

42. Касянчук В. В., Бергілевич О. М., Скляр О. І., Марченко А. М., Терьохіна О. В. Взаємозв'язок між кількістю соматичних клітин та захворюванням корів субклінічним маститом стафілококової та коліформної етіології. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2015. Вип. 1. С. 72–77.

43. Касянчук В. В., Бергілевич О. М., Марченко А. М., Скляр О. І. Розробка методу прогнозування захворюваності корів на субклінічний мастит. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2013. Вип. 9. С. 152–156.

44. Касянчук В. В., Марченко М. І., Скляр О. І., Іваннікова О. А. Характеристика захисних механізмів при маститі корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*. 2011. Т. 13. № 4 (1). С. 163–166.

45. Касянчук В., Скляр О., Іваннікова О., Марченко А. Вивчення та аналізування небезпечних чинників щодо виникнення маститу в корів на молочних фермах. *Ветеринарна медицина*. 2010. Вип. 93. С. 201–208.

46. Кацараба О. А. Профілактика акушерської патології та маститу корів у період сухостою. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*. 2015. Т. 17. № 1 (1). С. 59–65.

47. Киричко О. Б. Мікрофлора молока та показники резистентності здорових і хворих на субклінічний мастит корів при застосуванні полтавського бішофіту: автореф. дис. канд. вет. наук. Х., 2006. 20 с.

48. Коваленко А. М., Евглевский Д. А., Евглевский Ан. А. Новые подходы к лечению репродуктивных органов и молочной железы. *Вестник КГСХА*. Курск, № 5. 2010. С. 75–76.

49. Ковальова О. О., Тихонов О. І. Перспективи створення комбінованих ветеринарних препаратів для лікування ендометритів у корів. *Актуальні проблеми сучасної технології ліків та екстемпоральної рецептури*. Т. 1. С. 386–387.

50. Кондрашов М. С. Поширеність мікозного маститу серед дійних корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2010. Т. 12. № 3 (1). С. 99–102.

51. Корейба Л. В. Особливості клінічного прояву післяродових маститів у високопродуктивних корів в умовах приватного підприємства “Агро–союз” Синельниківського району Дніпропетровської області. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2015. Вип. 31 (2). С. 59–62.

52. Корейба Л. В., Ларченко О. І., Терешок В. В. Санітарно-гігієнічна оцінка молока корів за субклінічного маститу в умовах лабораторії

ветеринарно–санітарної експертизи на ринку "Самвел" міста Комсомольськ Полтавської області. *Ветеринарна біотехнологія*. 2015. № 26. С. 89–96.

53. Коробейникова С. Н. Модификация определения перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой. *Лабораторное дело*. 1989. № 7. С. 8–10.

54. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. Метод определения активности каталазы. *Лаб. дело*. 1988. № 1. С. 16–18.

55. Косенко М. В., Сергієнко О. И., Ковальчук Л. М. Изменения клеточной композиции молока при субклиническом мастите у коров. *Бюелетнь Львоской академии ветеринарной медицины*. 2002. Т. 4. № 5. С. 247–248.

56. Костишин Є. Є., Дмитрів О. Я., Стефаник В. Ю., Басараб Т. П., Костишин Л. Є., Панич О. П. Оцінка ефективності терапії корів за маститу у сухостійний період. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. 2015. Т. 17. № 2. С. 82–87.

57. Краєвський А. Й. Побічні ефекти нестероїдних протизапальних препаратів за маститу у корів. *Ветеринарна біотехнологія*. 2013. № 22. С. 264–269.

58. Краснова Н. Г., Головка А. М. Етіопатогенез і специфічна профілактика маститів у корів. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково–дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок*. 2013. Вип. 14. № 3–4. С. 390–397.

59. Крижанівський В. Я. Розроблення пристрою та дослідження способу електропунктурної терапії маститу корів: автореф. дис. канд. техн. наук. Л., 2002. 19 с.

60. Красочко И. А., Красочко П. А., Высочина Е. С. Продукты пчеловодства в коррекции неспецифического клеточного и гуморального иммунитета организма телят. *Ветеринарна біотехнологія*. 2012. Бюл. 21. С. 249–253.

61. Кушнір М. І., Стефаник В. Ю., Шпак М. О. Етіологічні чинники виникнення маститу у корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2012. Т. 14. № 3 (1). С. 130–135.

62. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / під ред. В. В. Влізла. — Л.: СПОЛОМ, 2012. 764 с.

63. Лебедев К. А., Понякина И. Д. Иммунограмма в клинической практике. М.: Наука, 1990. 224 с.

64. Левківська Н. Д. Мікрофлора секрету молочної залози та імунологічна реактивність організму корів, хворих на мастит: автореф. дис. канд. вет. наук. О., 2008. 18 с.

65. Левківська Н. Д. Циркулюючі імунні комплекси при субклінічному маститі у корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2010. Т. 12. № 2 (1). С. 183–185.

66. Левченко А. Г. Вплив цефтіоклину *in vitro* на золотистий стафілокок, виділений із молока маститних корів. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2014. Т. 16. № 3 (1). С. 212–215.

67. Левченко А. Г. Особливості прояву маститу у корів у господарствах з різними технологіями та розробка комплексних профілактично–лікувальних заходів: автореф. дис. канд. вет. наук. Київ, 2015. 20 с.

68. Мазинг Ю. А. Нейтрофильные гранулоциты и системы защиты организма. *Обзор. Арх. Патологи*. 1991. Т. 53. С. 70–73.

69. Макарова В. Г. Апитерапия в РГМУ: итоги экспериментально-клинических исследований последних лет // Апитерапия сегодня: *Материалы V научно-практической конференции*. Рыбное, 1997. С. 14–21.

70. Макеєв І. В., Головка А. М., Вечтомов В. Я. та ін. Мастити у корів *Наук. вісн. Львівської держ. акад. ветер. мед. ім. С. З. Гжицького*. Львів, 2000. С. 46–47.
71. Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. и др. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник. М.: Медицина, 1987. 368 с.
72. Маслянюк Р. П. Основи імунобіології. Л.: Вертикаль, 1999. 472 с.
73. Масс А. О., Овчаренко Г. В., Васецька А. І. Ефективність діагностики, профілактики та терапії корів, хворих на мастит. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18. № 1 (1). С. 101–104.
74. Мастит у коров / В. А. Париков, Н. Т. Климов, А. И. Романенко и др. *Ветеринария*. 2000. № 11. С. 34–37.
75. Матолінець Оксана Михайлівна. Вікові особливості антиоксидантної та імунної систем у тварин з кадмієвою інтоксикацією і корекція їх за допомогою антиоксидантів і ентеросорбентів: дис. канд. мед. наук: 14.03.04 / Тернопільська держ. медична академія ім. І.Я. Горбачевського. Т., 2000. – 167 арк. - Бібліогр.: арк. 128–164.
76. Мозгис В. Я. Естественная резистентность крупного рогатого скота. Кн.: Повыш. резистентности животных в условиях концентрации. Рига, 1982. С. 5–16.
77. Моин В. М. Простой и специфический метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Лабораторное дело*. 1986. № 12. – С. 724–727.
78. Мурська С. Д., Кухтин М. Д. Антибактеріальні препарати і встановлення чутливості збудників маститу і ендометриту у корів до них. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2012. Т. 14. № 2 (1). С. 256–259.

79. Мурська С. Д. Дослідження маститів у корів в господарствах Тернопільської області. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2013. Т. 15. № 3 (1). С. 232–238.

80. Мурська С. Д. Моніторинг маститів у корів господарств Львівської та Тернопільської області. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2014. Вип. 1. С. 207–211.

81. Мурська С. Д. Сучасні наукові підходи щодо забезпечення якості молока та розробки безпечних засобів без антибіотиків для лікування корів хворих на мастит / С. Д. Мурська // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18. № 1 (1). С. 205–220.

82. Надточій В. М., Надточій В. П., Осіпенко О. П. Фізико–хімічні показники молока корів, хворих на субклінічну форму маститу. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2012. Вип. 7. С. 131–134.

83. . Оконенко Л. Б. Прополис и его применение в медицине. *Клин. мед.* 1985. № 10. С. 20–23.

84. Олейник А. В. Маститы у высокопродуктивных коров. *Ветеринария*. 2007. № 8. С. 9–12.

85. Омаров Ш. М. Апитерапия: продукты пчеловодства в мире медицины. Ростов н/Д: Феникс, 2009. 351 с.

86. Онищенко О. В. Терапія корів із субклінічними маститами сухостійного періоду з використанням озонованого матеріалу. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2014. Вип. 28 (2). С. 504–506.

87. Определение естественной резистентности и обмена веществ у сельскохозяйственных животных / Чумаченко В. Е., Высоцкий А. М., Сердюк Н. А., Чумаченко В. В. К.: Урожай, 1990. 136 с.

88. Орлова Э. П. Сравнительная оценкатерапевтической эффективности мастисана-А, мастисана-В и дифурола-А. *Сб. научн. тр. ЛВИ*. 1982. Вып. 70. С. 53–55.

89. Паневник В. В., Супрович Т. М. Етіологічні чинники маститів корів української чорно-рябої молочної породи. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18. № 3. С. 191–195.

90. Панич О. П., Падовський В. Н., Калініна О. Й., Пашковська М. В., Стефанік В. Ю., Костишин Є. Є. Порівняльна оцінка терапевтичної ефективності вітчизняних та імпортованих ветеринарних препаратів при лікуванні корів, хворих на мастит. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2014. Т. 16. № 3 (1). С. 252–258.

91. Париков В. А., Климов Н. Т., Романенко А. И. и др. Мастит у коров (профилактика и терапия). *Ветеринария*. 2000. № 11. С. 34–37.

92. . Париков В. А., Климов Н. Т., Притыкин Н. В., Пониткин Д. М. Мастит коров – основная проблема молочного скотоводства. Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных. *Международ. науч.-произв. конф., посвященная 100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А.* Воронеж, 22-23 июня 2006 г. – Воронеж: Научная книга, 2006. С. 963–966.

93. Пастернак А. М. Морфологічні особливості молочної залози корів за лактаційних маститів. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2017. Вип. 34 (2). С. 194–197.

94. Пастернак А. М. Озонотерапія корів із субклінічними маститами лактаційного періоду. *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини*. 2014. Вип. 28 (2). С. 506–509.

95. Переста А. М., Калачнюк Л. Г., Постоєнко Г. В. Природна резистентність корів при маститах за впливу апіфітопрепаратів. *Бджільництво України*. 2017. Вип. 2. С. 166–171.

96. Перкій Ю. Б., Крижанівський Я. Й., Моткалюк Н. Ф., Гащак О. Я., Шуманський Ю. І. Новий спосіб діагностики субклінічного маститу корів у період сухостою. *Науковий вісник Львівського національного університету*

ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. 2010. Т. 12. № 3 (1). С. 177–181.

97. Петров Р.В. Иммунология. М., Мир. 1990. 368 с.

98. Плахотнюк І. М. Вплив стану молочної залози на відновлення відтворної функції корів за гіпофункції яєчників: автореф. дис. канд. вет. наук. К., 2009. 20 с.

99. Подберезный В. В. Биотерапия и биопрофилактика мастита у коров: автореф. диссерт. на соискание степени д. вет. н. Воронеж, 1995. 45 с.

100. Поліщук М. М. Лікування корів, хворих на серозний мастит. *Ветеринарна медицина України*. 2013. № 3. С. 43.

101. Понамарев В. К. Взаимосвязь маститов и гинекологических болезней у коров. *Материалы международной научнопрактической конференции*. Воронеж, 2002. С. 496–497.

102. Постоєнко В. О., Переста А. М., Калачнюк Л. Г., Постоєнко Г. В. Вплив апіфітопрепарату мазь "Антимаст" на природну резистентність корів при гнійно–катаральних маститах. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18. № 1 (1). С. 124–128.

103. Притыкин Н. В. Субклинический мастит у коров в сухостойный период, его профилактика и терапия с использованием фурадина: автореф. дис. канд. вет. наук. Воронеж, 2003. 23 с.

104. Риженко Г. Ф., Горбатюк О. І., Андріяшук В. О., Жовнір О. М., Уховська Т. М., Тютюн С. М., Каменчук П. П. Мікробіологічне забруднення молока і молочних продуктів за субклінічних маститів у корів та шляхи їх попередження. *Ветеринарна біотехнологія*. 2016. Вип. 29. С. 233–241.

105. Розум Є. Є. Вплив препарату Бігель–10 на мікрофлору секрету вимені корів, хворих на мастит в післяродовому періоді. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*. 2015. Вип. 77. С. 83–87.

106. Роман Л. Г. Динаміка маститу сухостійних корів. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*. 2013. Вип. 68. С. 230–235.

107. Роман Л. Г. Ефективність йодовмісного препарату ПІВС при маститі корів. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*. 2015. Вип. 77. С. 88–93.

108. Роман Л. Г. Застосування неантибіотиковмісного препарату мастилін при маститі сухостійних корів. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*. 2015. Вип. 77. С. 94–98.

109. Роман Л. Г. Мікробний пейзаж секрету вим'я корів при постлактаційному маститі. *Аграрний вісник Причорномор'я. Ветеринарні науки*. 2014. Вип. 72. С. 62–66.

110. Роман Л. Г. Фармакопрофілактика мастита у лактуючих корів з застосуванням нового захисного крему "Доярушка". *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. 2016. Вип. 237. С. 66–73.

111. Руденко П. А. Асоціації умовно патогенних бактерій в патології великої рогатої худоби: автореф. дис. канд. вет. наук. Х., 2002. 20 с.

112. Салецька О. В. Діагностика, терапія і профілактика серозного маститу у свиноматок: автореф. дис. канд. вет. наук. Л., 2008. 20 с.

113. Сачук Р. М., Жигалюк С. В., Збожинська О. В., Лук'яник І. М., Сус Г. В., Магрело Н. В., Кацараба О. А. Ефективність "Фітоспрею" при лікуванні та профілактиці дерматитів дійок вимені та маститу у корів. *Ветеринарна біотехнологія*. 2016. Вип. 28. С. 247–254.

114. Сейланов А. С., Нурханов Б. М. Влияние энтеросорбции на перекисное окисление и антиоксидантную активность липидов печени и крови при комбинированной термической травме. *Вопросы медицинской химии*. 1990. Т. 36. № 5. С. 61–63.

115. Синяков А. Ф. Мед и медолечение. М.: Вече, 2000. 464 с.

116. Система иммунитета при заболевании внутренних органов // Под ред. М. Ганджи. К.: Здоров'я, 1985. 180 с.

117. Скляр О. І. Діагностична цінність швидких маститних тестів, що базуються на визначенні соматичних клітин. *Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту*. Біла Церка, 2010. № 3. С. 92—95.

118. Скляр О. І., Фотіна Т. І. Санітарний стан доїльного обладнання та його вплив на розповсюдження субклінічного маститу корів. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2016. Вип. 6. С. 50–53.

119. Скляр О. І. Вдосконалення способу фарбування мазків молока (секрету) вимені корів для визначення кількості соматичних клітин при субклінічному маститі. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2010. Т. 12. № 2 (1). С. 283–287.

120. Скляр О. І. Діагностика субклінічного маститу корів. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2014. Вип. 6. С. 187–189.

121. Скляр О. І. Роль ветеринарно–санітарних заходів та правил доїння корів у профілактиці субклінічного маститу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*. 2010. Т. 12. № 3 (4). С. 278–282.

122. Скляр О. І. Санітарно-гігієнічна оцінка безпечності та якості молока корів за вмістом соматичних клітин: автореф. дис. д-ра вет. наук. Л., 2013. 39 с.

123. Скляренко Ю. І., Чернявська Т. О. Зміни вмісту складових молока при захворюванні корів на мастит. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Тваринництво*. 2013. Вип. 1. С. 66–68.

124. Скорохід І. В., Воробель М. І., Харачко Г. Я. Ефективність застосування гомеопатичних препаратів у лікуванні маститів у корів. *Передгірне та гірське землеробство і тваринництво*. 2011. Вип. 53 (2). С. 186–190.

125. Слободяник В. И., Нежданов А. Г., Зинькевич В. Г. Мастит и акушерская патология у коров. *Ветеринария*. 1999. № 9. С. 36–38.

126. Смоляр В. Рівень захворюваності корів на мастит за використання різних типів доїльних установок. *Техніка і технології АПК*. 2014. № 1. С. 17–19.

127. Собко Г. В. Вплив препарату "Антимаст" на стан Т– і В–клітинної ланок імунітету корів, хворих на субклінічну форму маститу. *Біологія тварин*. 2016. Т. 18. № 4. С. 86–92.

128. Собко Г. В., Брода Н. А., Віщур О. І., Куртяк Б. М. Вплив препарату «Антимаст» на стан системи антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18. № 1 (1). С. 158–163.

129. Собко Г. В. Чутливість мікробних асоціацій та їх отриманих ізолятів з досліджуваних проб молока від корів, хворих на субклінічні форми маститів, до антибактеріальних препаратів. *Біологія тварин*. 2016. Т. 18. № 4. С. 187.

130. Стеблов И. И. Медовые рецепты. Пчелиный подмор, эликсир молодости, медовый массаж, золотая глина. СПб: Ареал_Принт, 2005. 128 с.

131. Стегній Б. Т., Герілович А. П., Ібітулін І. І., Бісюк І. Ю., Комісаренко С.В., Влізло В. В. та ін. Проблеми біологічної безпеки та біологічного захисту у ветеринарній медицині та біотехнології. Харків: НТМТ, 2013. 414 с.

132. Стефаник В. Ю., Шпак М. О. Мастит у нетелів і корів–первісток. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького*. 2012. Т. 14. № 2 (1). С. 318–329.

133. Стравський Я. С. Корекція антиоксидантного захисту організму корів у період запуску та сухостою препаратом «Євістел». *Науковий вісник ЛНУВМБ ім. С. З. Гжицького*. Т. 17. № 1 (61). Ч. 1. 2015. С. 190–194.

134. Стравський Я. С. Шуманський Ю. І. Тканинний препарат "СТП" у профілактиці субклінічного маститу корів, патології отелення та післяотельного періоду. *Науково-технічний бюлетень Інституту біології*

тварин і державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. 2013. Вип. 14. № 3–4. С. 96–100.

135. Супрович Т. М., Супрович М. П., Карчевська Т. М., Чорний І. О., Чепурна В. А. Алельний поліморфізм гена BOLA–DRB3.2 в зв'язку з типами вивідної системи вимені та маститами корів української чорно–рябої молочної породи. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Серія: Ветеринарні науки*. 2016. Т. 18. № 3 (71). С. 117–123.

136. Супрович Т. М., Супрович М. П., Колінчук Р. В. Антигенний спектр класу I bola–системи у корів з різною етіологією маститів. *Аграрна наука та харчові технології*. 2015. Вип. 1. С. 111–124.

137. Супрович Т. М., Копилов К. В. Визначення ДНК–маркерів у схильних та резистентних до маститів корів української чорно–рябої молочної породи. *Розведення і генетика тварин*. 2014. Вип. 48. С. 214–222.

138. Супрович Т. М., Влізло В. В. Використання імуногенетичних маркерів для виявлення корів, резистентних або чутливих до маститів. *Біологія тварин*. 2013. Т. 15. № 4. С. 119–127.

139. Супрович Т. М. Використання лімфоцитарних і ДНК–маркерів МНС–системи для виявлення корів резистентних або чутливих до маститів. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2013. Вип. 9. С. 179–184.

140. Супрович Т. М. Виявлення антигенів класу I BoLA–системи у корів з різною етіологією маститів. *Науково–технічний бюлетень Науково–дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. 2015. Т. 3. № 3. С. 25–31.

141. Супрович Т. М. Експресія антигенів bola–системи у стійких та чутливих до маститів корів української червоно–рябої молочної породи. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Ветеринарна медицина*. 2012. Вип. 1. С. 131–135.

142. Супрович Т. М. Молекулярно–генетичний аналіз головного комплексу гістосумісності в зв'язку зі стійкістю та сприйнятливістю до маститів у корів: автореф. дис. д–ра с.–г. наук. с. Чубинське. Київ. обл., 2014. 40 с.

143. Супрович Т. Поліморфізм гена BoLA–DRB3 у корів, сприйнятливих та стійких до маститів. *Тваринництво України*. 2013. № 12. С. 14–19.

144. Супрович Т. Розподіл алелів гена BoLA–DRB3.2 у корів української червоно–рябої молочної породи при маститах. *Тваринництво України*. 2015. № 11. С. 15–19.

145. Сухін В. М. Використання біологічно активних речовин і електроанальгезії для підвищення резистентності, продуктивності та лікування маститів у корів: автореф. дис. канд. вет. наук. Д., 2000. 16 с.

146. Тихонов А. И., Будникова Т. Н., Богуславская Л. И. Исследование хим. состава экстракта прополиса. *Тез. док. V съезда фармацевтов БССР*. Минск. 1989. С. 134.

147. Тихонов А. И., Сало Д. П. Лечебные свойства прополиса. *Библиотека практического врача*. Киев: Здоровье 1977 г. 72 с. Палітурка. переплет: Мягкий, Обычный формат.

148. Тишківська Н. В., Тишківський Н. В. Зміни технологічних властивостей молока корів за субклінічного маститу. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2016. Вип. 2. С. 40–45.

149. Тишківська Н. В. Морфологічний склад молока корів за субклінічного маститу. *Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. Серія: Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва*. 2015. Вип. 221. С. 135–138.

150. Федорук Р. С., Ковальчук І. І. Біологічна цінність і якість молока в контексті техногенного забруднення природного середовища та екологічної безпеки. 2007. Вип. 1–2. Т 9. *Біологія тварин*. С. 10–19

151. Фисенкова И. В. Разработка и совершенствование методов лечения коров при маститах: автореф. дис. канд. вет. наук. СПб. 1997. 18 с.

152. Хисматуллина Н. З. Апитерапия. Пермь: Мобиле, 2005. 296 с.
153. Хоменко В. І., Роговський П. Я., Риженко Г. Ф. Санітарна якість і безпека молока для людей та тварини при прихованій формі маститу. *Наук. вісн. Львівської держ. акад. ветер. мед. ім. С. З. Гжицького*. Львів, 2000. Т. 2. № 2. Ч. 4. С. 106–111.
154. Хомин С. П., Дмитрів О. Я. Роль мікробів в етіології маститу у корів *Наук. вісн. Львівської держ. акад. ветер. мед. ім. С. З. Гжицького*. Львів, 1999. Т. 1. № 4. С. 146–151.
155. Хомин С., Стефаник В., Дмитрів О. та ін. Окремі аспекти патогенезу маститу в корів. *Ветеринарна медицина України*. 2005. № 10. С. 27–29.
156. Хомутов С. Л. Клінічний і субклінічний мастит корів та обґрунтування екологічно безпечних засобів терапії і профілактики: автореф. дис. канд. вет. наук. Суми, 2011. 20 с.
157. Хомин С. П., Зверєва Г. В., Олексів В. М. Частота виникнення і особливості перебігу маститу у корів при акушерських та гінекологічних захворюваннях. *Вісник Білоцерків. держ. агр. ун-ту*. Біла Церква, 1998. Вип. 5. Ч. 2. С. 111–112.
158. Шаев Р. К. Динамика некоторых показателей крови коров при лечении субклинической формы мастита биогенными стимуляторами. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2011. Вип. 4. Т. 208. С. 337–342.
159. Шахов А. Г. Неотложные задачи профилактики мастита у коров. *Ветеринария*. 2005. № 8. С. 3–7.
160. Шпилева Л. О. Імунобіологічна реактивність корів, хворих на субклінічний мастит, і її зміни після лазеротерапії: автореф. дис. канд. вет. наук. К., 2003. 20 с.
161. Шуманський Ю. В. Мастити корів у період запуску та сухостою (діагностика, лікування, профілактика): автореф. дис. канд. вет. наук. Л., 2013. 20 с.

162. Шуманський Ю. І. Лабораторна діагностика маститу корів за різних схем дослідження. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького*. 2011. Т. 13. № 4 (1). С. 507–510.
163. Яблонський В. А., Желавський М. М. Інтенсивність антитілоутворення в організмі корів при субклінічному маститі. *Ветеринарна медицина України*. 2013. № 3. С. 15–16.
164. Яблонський В. А., Любецький В. Й., Авдеева І. І. Патологія молочної залози. К., 2004. 46 с.
165. Яковлева Л. В., Лікування експериментального проктиту супозиторіями "Пропофен". *Клінічна фармація*. 2000. Т. 4. № 2. С. 46–50.
166. Ярошно Я. М. Метаболізм фібриногену та стан системи фібринолізу за бактерійного маститу у корів: автореф. дис. канд. вет. наук. Суми, 2011. 19 с.
167. Ярошно Я. М., Краєвський А. Й. Показники фібринолітичної активності у корів за маститу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені Гжицького*. 2011. Т. 13. № 4 (1). С. 514–520.
168. Agrahari G., Liang Z., Glington K., Lee S. W., Ploplis V. A., Castellino F. J. Streptococcus pyogenes employs strain-dependent mechanisms of C3b inactivation to inhibit phagocytosis and killing of bacteria. *J Biol Chem*. 2016. V. 291. № 17. P. 9181–9189.
169. Ahangari Z, Ghorbanpoor M, Shapouri MRS, Gharibi D, Ghazvini K. Methicillin resistance and selective genetic determinants of Staphylococcus aureus isolates with bovine mastitis milk origin. *Iran J Microbiol*. 2017. V. 9. № 3. P. 152–159.
170. Ahsan S. M., Thomas M., Reddy K. K., Sooraparaju S. G., Asthana A., Bhatnagar I. Chitosan as biomaterial in drug delivery and tissue engineering. *Int J Biol Macromol*. 2018. V. 110. P. 97–109.

171. Alhussien M., Kaur M., Manjari P., Kimothi S. P., Mohanty A. K., Dang A. K. A comparative study on the blood and milk cell counts of healthy, subclinical, and clinical mastitis Karan Fries cows. *Vet World*. 2015. V. 8. № 5. P. 685–689.
172. Alhussien M., Manjari P., Mohammed S., Sheikh A. A., Reddi S., Dixit S., Dang A. K. Incidence of mastitis and activity of milk neutrophils in Tharparkar cows reared under semi-arid conditions. *Trop Anim Health Prod*. 2016. V. 48. № 6. P. 1291–1295.
173. Ali A., Ahmed S. A review on Chitosan and its nanocomposites in drug delivery. *Int J Biol Macromol*. 2018. V. 109. P. 273–286.
174. Ali T., Rahman S. U., Zhang L., Shahid M., Han D., Gao J., Zhang S., Ruegg P. L., Saddique U., Han B. Characteristics and genetic diversity of multi-drug resistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis. *Oncotarget*. 2017. V. 8. № 52. P. 90144–90163.
175. Alkasir R., Wang J., Gao J., Ali T., Zhang L., Szenci O., Bajcsy Á. C., Han B. Properties and antimicrobial susceptibility of *Trueperella pyogenes* isolated from bovine mastitis in China. *Acta Vet Hung*. 2016. V. 64. № 1. P. 1–12.
176. Altena S. E., Peen M. A., van der Linden F. H., Parmentier H. K., Savelkoul H. F., Tijhaar E. J. Bovine natural antibodies in antibody-dependent bactericidal activity against *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium* and risk of mastitis. *Vet Immunol Immunopathol*. 2016. V. 171. P. 21–27.
177. Arandjelovic S., Ravichandran K. S. Phagocytosis of apoptotic cells in homeostasis. *Nat Immunol*. 2015. V. 16. P. 907–917.
178. Arnott G., Ferris C. P., O'Connell N. E. Review: welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. *Animal*. 2017. V. 11. P. 261–273.
179. Arredondo-Ochoa T., García-Almendárez B. E., Escamilla-García M., Martín-Belloso O., Rossi-Márquez G., Medina-Torres L., Regalado-González C. Physicochemical and Antimicrobial Characterization of Beeswax-Starch Food-Grade Nanoemulsions Incorporating Natural Antimicrobials. *Int J Mol Sci*. 2017. V. 18 (12). P. 2712.

180. Ashraf A., Imran M., Yaqub T., Tayyab M., Shehzad W., Thomson P. C. A novel multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically significant bacterial pathogens associated with bovine mastitis. *Mol Cell Probes*. 2017. V. 33. P. 57–64.
181. Aslantaş Ö., Demir C. Investigation of the antibiotic resistance and biofilm-forming ability of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis cases. *J Dairy Sci*. 2016. V. 99 (11). P. 8607–8613.
182. Asli A., Brouillette E., Ster C., Ghinet M. G., Brzezinski R., Lacasse P., Jacques M., Malouin F. Antibiofilm and antibacterial effects of specific Chitosan molecules on *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis. *PLoS One*. 2017. V. 12 (5): e0176988.
183. Asli A., Brouillette E., Ster C., Ghinet M. G., Brzezinski R., Lacasse P., Jacques M., Malouin F. Antibiofilm and antibacterial effects of specific Chitosan molecules on *Staphylococcus aureus* isolates associated with bovine mastitis. *PLoS One*. 2017. V. 12 (5): e0176988.
184. Awad A., Ramadan H., Nasr S., Ateya A., Atwa S. Genetic characterization, antimicrobial resistance patterns and virulence determinants of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Pak J Biol Sci*. 2017. V. 20 (6). P. 298–305.
185. Bae H., Jeong C. H., Cheng W. N., Hong K., Seo H. G., Han S. G. Oxidative stress-induced inflammatory responses and effects of N-acetylcysteine in bovine mammary alveolar cells. *J Dairy Res*. 2017. V. 84 (4). P. 418–425.
186. Bahraminia F., Emadi S. R., Emaneini M., Farzaneh N., Rad M., Khoramian B. A high prevalence of tylosin resistance among *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis. *Vet Res Forum*. 2017. V. 8 (2). P. 121–125.
187. Bandyopadhyay S., Samanta I., Bhattacharyya D., Nanda P. K., Kar D., Chowdhury J., Dandapat P., Das A. K., Batul N., Mondal B., Dutta T. K., Das G., Das B. C., Naskar S., Bandyopadhyay U. K., Das S. C., Bandyopadhyay S. Co-infection of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia*

coli in bovine mastitis-three cases reported from India. *Vet Q.* 2015. V. 35 (1). P. 56–61.

188. Bangar Y. C., Singh B., Dohare A. K., Verma M. R. A systematic review and meta-analysis of prevalence of subclinical mastitis in dairy cows in India. *Trop Anim Health Prod.* 2015. V. 47 (2). P. 291–297.

189. Bansal B., Gupta D., Randhawa S., Ravikanth K., Adarsh, Maini S. Mastitis treatment and prevention of new intramammary infections with topical herbal spray international. *Journal of medical science and clinical inventions.* 2015. V. 2 (7). P. 1105-1113.

190. Bansal B. K., Gupta D. K., Shafi T. A., Sharma S. Comparative antibiogram of coagulase-negative Staphylococci (CNS) associated with subclinical and clinical mastitis in dairy cows. *Vet World.* 2015. V. 8(3). P. 421–426.

191. Bardiau M., Caplin J., Detilleux J., Graber H., Moroni P., Taminiau B., Mainil J. G. Existence of two groups of Staphylococcus aureus strains isolated from bovine mastitis based on biofilm formation, intracellular survival, capsular profile and agr-typing. *Vet Microbiol.* 2016. V. 185. P. 1–6.

192. Bassel L. L., Caswell J. L. Bovine neutrophils in health and disease. *Cell Tissue Res.* 2018. V. 371(3). P. 617–637.

193. Bastan A., Cengiz M., Cengiz S., Sel T., Polat B., Colak A., Akan M., Darbaz I. Nitric oxide concentrations in mammary quarters during heifer mastitis. *Animal.* 2013. V. 7 (3). P. 499–504.

194. Bi Y., Wang Y. J., Qin Y., Guix Vallverdú R., Maldonado García J., Sun W., Li S., Cao Z. Prevalence of bovine mastitis pathogens in bulk tank milk in China. *PLoS One.* 2016. V. 11 (5): e0155621.

195. Blagitz M. G., Souza F. N., Batista C. F., Azevedo L. F., Benites N. R., Melville P. A., Diniz S. A., Silva M. X., Haddad J. P., Heinnemann M. B., Cerqueira M. M., Della Libera A. M. The neutrophil function and lymphocyte profile of milk from bovine mammary glands infected with Streptococcus dysgalactiae. *J Dairy Res.* 2015. V. 82 (4). P. 460–469.

196. Blagitz M. G., Souza F. N., Santos B. P., Batista C. F., Parra A. C., Azevedo L. F., Melville P. A., Benites N. R., Della Libera A. M. Function of milk polymorphonuclear neutrophil leukocytes in bovine mammary glands infected with *Corynebacterium bovis*. *J Dairy Sci.* 2013. V. 96 (6). P. 3750–3757.
197. Blum S. E., Heller E. D., Jacoby S., Krifucks O., Leitner G. Comparison of the immune responses associated with experimental bovine mastitis caused by different strains of *Escherichia coli*. *J Dairy Res.* 2017. V. 84 (2). P. 190–197.
198. Bobbo T., Ruegg P. L., Stocco G., Fiore E., Giancesella M., Morgante M., Pasotto D., Bittante G., Cecchinato A. Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein composition, and cheese-making traits in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (6). P. 4868–4883.
199. Bochniarz M., Zdzisińska B., Wawron W., Szczubiał M., Dąbrowski R. Milk and serum IL-4, IL-6, IL-10, and amyloid A concentrations in cows with subclinical mastitis caused by coagulase-negative staphylococci. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (12). P. 9674–9680.
200. Borne B. H. P., Soest F. J. S., Reist M., Hogeveen H. Quantifying preferences of farmers and veterinarians for national animal health programs: The example of bovine mastitis and antimicrobial usage in Switzerland. *Front Vet Sci.* 2017. V. 4. P. 82.
201. Bortolami A., Fiore E., Giancesella M., Corró M., Catania S., Morgante M. Evaluation of the udder health status in subclinical mastitis affected dairy cows through bacteriological culture, somatic cell count and thermographic imaging. *Pol J Vet Sci.* 2015. V. 18 (4). P. 799–805.
202. Boudreau J. E., Hsu K. C. Natural killer cell education in human health and disease. *Curr Opin Immunol.* 2018. V. 50. P. 102–111.
203. Boujenane I., El Aïmani J., By K. Effects of clinical mastitis on reproductive and milk performance of Holstein cows in Morocco. *Trop Anim Health Prod.* 2015. V. 47 (1). P. 207–211.
204. Boyer des Roches A., Faure M., Lussert A., Herry V., Rainard P., Durand D., Foucras G. Behavioral and patho-physiological response as possible signs

of pain in dairy cows during *Escherichia coli* mastitis: A pilot study. *J Dairy Sci.* 2017. V.100 (10). P. 8385–8397.

205. Breser M. L., Felipe V., Bohl L. P., Orellano M. S., Isaac P., Conesa A., Rivero V. E., Correa S. G., Bianco I. D., Porporatto C. Chitosan and cloxacillin combination improve antibiotic efficacy against different lifestyle of coagulase-negative *Staphylococcus* isolates from chronic bovine mastitis. *Sci Rep.* 2018. V. 8 (1). P. 5081.

206. Brown G. C., Vilalta A., Fricker M. Phagoptosis – Cell death by phagocytosis –Plays central roles in physiology, host defense and pathology. *Curr Mol Med.* 2015. V. 15 (9). P. 842–851.

207. Burmańczuk A., Hola P., Milczak A., Piech T., Kowalski C., Wojciechowska B., Grabowski T. Quercetin decrease somatic cells count in mastitis of dairy cows. *Res Vet Sci.* 2018. V. 117. P. 255–259.

208. Canning P., Hassfurth R., TerHune T., Rogers K., Abbott S., Kolb D. Efficacy and clinical safety of pegbovigrastim for preventing naturally occurring clinical mastitis in periparturient primiparous and multiparous cows on US commercial dairies. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (8). P. 6504–6515.

209. Cardozo V. F., Lancheros C. A., Narciso A. M., Valereto E. C., Kobayashi R. K., Seabra A. B., Nakazato G. Evaluation of antibacterial activity of nitric oxide-releasing polymeric particles against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* from bovine mastitis. *Int J Pharm.* 2014. V. 473 (1–2). P. 20–29.

210. Ceotto-Vigoder H., Marques S. L., Santos I. N., Alves M. D., Barrias E. S., Potter A., Alviano D. S., Bastos M. C. Nisin and lysostaphin activity against preformed biofilm of *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis. *J Appl Microbiol.* 2016. V. 121 (1). P. 101–114.

211. Chan G. C., Cheung K. W., Sze D. M. The immunomodulatory and anticancer properties of propolis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2013. V. 44 (3). P. 262–273.

212. Chang G., Petzl W., Vanselow J., Günther J., Shen X., Seyfert H. M. Epigenetic mechanisms contribute to enhanced expression of immune response genes

in the liver of cows after experimentally induced *Escherichia coli* mastitis. *Vet J.* 2015. V. 203 (3). P. 339–341.

213. Chen L., Han Y., Chen Y., Li Z., Wang H., Liu Y., He H., Chen S., Liu X. Eight SNVs in NF- κ B pathway genes and their different performances between subclinical mastitis and mixed Chinese Holstein cows. *Gene.* 2015. V. 555 (2). P. 242–249.

214. Chen R., Wang Z., Yang Z., Zhu X., Ji D., Mao Y. Association of IL8 – 105G/A with mastitis somatic cell score in Chinese Holstein dairy cows. *Anim Biotechnol.* 2015. V. 26 (2). P. 143–147.

215. Chen W., Liu Y., Yin J., Deng Y., Ali T., Zhang J., Cheng J., Ur Rahman S., Gao J., Han B. Cloning, expression, and immunogenicity of Fimbrial–F17A subunit vaccine against *escherichia coli* isolated from bovine mastitis. *Biomed Res Int.* 2017. V. 2017: 3248483.

216. Collado R., Prenafeta A., González–González L., Pérez–Pons J. A., Sitjà M. Probing vaccine antigens against bovine mastitis caused by *Streptococcus uberis*. *Vaccine.* 2016. V. 34 (33). P. 3848–3854.

217. Cortinhas C. S., Tomazi T., Zoni M. S. F., Moro E., Veiga Dos Santos M. Randomized clinical trial comparing ceftiofur hydrochloride with a positive control protocol for intramammary treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (7). P. 5619–5628.

218. Costa F. N., Belo N. O., Costa E. A., Andrade G. I., Pereira L. S., Carvalho I. A., Santos R.L. 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. *Trop Anim Health Prod.* 2018. V. 50 (5). P. 1089–1097.

219. Costa Krewer C., Santos Amanso E., Veneroni Gouveia G., de Lima Souza R., da Costa M. M., Aparecido Mota R. Resistance to antimicrobials and biofilm formation in *Staphylococcus* spp. isolated from bovine mastitis in the Northeast of Brazil. *Trop Anim Health Prod.* 2015. V. 47 (3). P. 511–518.

220. Dahl M. O., Maunsell F. P., De Vries A., Galvao K. N., Risco C. A., Hernandez J. A. Evidence that mastitis can cause pregnancy loss in dairy cows: A systematic review of observational studies. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (10). P. 8322–8329.
221. De U. K., Mukherjee R. Activity of cyclooxygenase-2 and nitric oxide in milk leucocytes following intramammary inoculation of a bio-response modifier during bovine *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *Vet Res Commun.* 2014. V. 38 (3). P. 201–207.
222. Deb R., Kumar A., Chakraborty S., Verma A. K., Tiwari R., Dhama K., Singh U., Kumar S. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. *Pak J Biol Sci.* 2013. V. 16 (23). P. 1653–1661.
223. Degen S., Paduch J. H., Hoedemaker M., Krumker V. Factors affecting the probability of bacteriological cure of bovine mastitis. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere.* 2015. V. 43 (4). P. 222–227.
224. Dervishi E., Zhang G., Hailemariam D., Dunn S. M., Ametaj B. N. Innate immunity and carbohydrate metabolism alterations precede occurrence of subclinical mastitis in transition dairy cows. *J Anim Sci Technol.* 2015. V. 57. P. 46.
225. Detilleux J. Tolerance to bovine clinical mastitis: Total, direct, and indirect milk losses. *J Dairy Sci.* 2018. V. 101 (4). P. 3334–3343.
226. Ding Y., Zhao J., He X., Li M., Guan H., Zhang Z., Li P. Antimicrobial resistance and virulence-related genes of *Streptococcus* obtained from dairy cows with mastitis in Inner Mongolia, China. *Pharm Biol.* 2016. V. 54 (1). P. 162–167.
227. Down P. M., Bradley A. J., Breen J. E., Green M. J. Factors affecting the cost-effectiveness of on-farm culture prior to the treatment of clinical mastitis in dairy cows. *Prev Vet Med.* 2017. V. 145. P. 91–99.
228. Duarte C. M., Freitas P. P., Bexiga R. Technological advances in bovine mastitis diagnosis: an overview. *J Vet Diagn Invest.* 2015. V. 27 (6). P. 665–672.
229. Ebert F., Staufenbiel R., Simons J., Pieper L. Randomized, blinded, controlled clinical trial shows no benefit of homeopathic mastitis treatment in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (6). P. 4857–4867.

230. Eisenberg S. W. F., Boerhout E. M., Ravesloot L., Daemen A. J. J. M., Benedictus L., Rutten V. P. M. G., Koets A. P. Diurnal differences in milk composition and its influence on in vitro growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in bovine quarter milk. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (7). P. 5690–5700.

231. Entorf M., Feßler A. T., Kaspar H., Kadlec K., Peters T., Schwarz S. Comparative erythromycin and tylosin susceptibility testing of streptococci from bovine mastitis. *Vet Microbiol.* 2016. V. 194. P. 36–42.

232. Fairbrother J. H., Dufour S., Fairbrother J. M., Francoz D., Nadeau É., Messier S. haracterization of persistent and transient *Escherichia coli* isolates recovered from clinical mastitis episodes in dairy cows. *Vet Microbiol.* 2015. V. 176 (1–2). P. 126–33.

233. Falentin H., Rault L., Nicolas A., Bouchard D. S., Lassalas J., Lamberton P., Aubry J. M., Marnet P. G., Le Loir Y., Even S. Bovine teat microbiome analysis revealed reduced alpha diversity and significant changes in taxonomic profiles in quarters with a history of mastitis. *Front Microbiol.* 2016. V. 7. P. 480.

234. Fan J., Zeng Z., Mai K., Yang Y, Feng J., Bai Y., Sun B., Xie Q., Tong Y., Ma J. Preliminary treatment of bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus*, with trx–SA1, recombinant endolysin of *S. aureus* bacteriophage IME–SA1. *Vet Microbiol.* 2016. V. 191. P. 65–71.

235. Felipe V., Morgante C. A., Somale P. S., Varroni F., Zingaretti M. L., Bachetti R. A.,Correa S. G., Porporatto C. Evaluation of the biofilm forming ability and its associated genes in *Staphylococcus* species isolates from bovine mastitis in Argentinean dairy farms. *Microb Pathog.* V. 104. P. 278–286.

236. Figueiredo S. M., Nogueira–Machado J. A., Almeida Bde M., Abreu S. R., de Abreu J. A., Filho S. A., Binda N. S., Caligiorne R. B. Immunomodulatory properties of green propolis. *Recent Pat Endocr Metab Immune Drug Discov.* 2014. V. 8(2). P. 85–94.

237. Fiordalisi S. A. L., Honorato L. A., Loiko M. R., Avancini C. A. M., Veleirinho M. B. R., Filho L. C. P. M., Kuhnen S. The effects of Brazilian propolis

on etiological agents of mastitis and the viability of bovine mammary gland explants. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (3). P. 2308–2318.

238. Fogsgaard K. K., Bennedsgaard T. W., Herskin M. S. Behavioral changes in freestall-housed dairy cows with naturally occurring clinical mastitis. *J Dairy Sci.* 2015. V. 98 (3). P. 1730–1738.

239. Forrester S. J., Kikuchi D. S., Hernandez M. S., Xu Q., Griendling K. K. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circ Res.* 2018. V. 122 (6). P. 877–902.

240. Franchin M., Freires I. A., Lazarini J. G., Nani B. D., da Cunha M. G., Colón D. F., de Alencar S. M., Rosalen P. L. The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. *Eur J Med Chem.* 2017. V. 153. P. 49–55

241. Franco R., Martínez-Pinilla E. Chemical rules on the assessment of antioxidant potential in food and food additives aimed at reducing oxidative stress and neurodegeneration. *Food Chem.* 2017. V. 235. P. 318–323.

242. Francoz D., Wellemans V., Dupré J. P., Roy J. P., Labelle F., Lacasse P., Dufour S. Invited review: A systematic review and qualitative analysis of treatments other than conventional antimicrobials for clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (10). P. 7751–7770.

243. Fratini F., Cilia G., Turchi B., Felicioli A. Beeswax: A minireview of its antimicrobial activity and its application in medicine. *Asian Pac J Trop Med.* 2016. V. 9 (9). P. 839–843.

244. Fuenzalida M. J., Fricke P. M., Ruegg P. L. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2015. V. 98 (6). P. 3791–3805.

245. Fursova K. K., Shchannikova M. P., Loskutova I. V., Shepelyakovskaya A. O., Laman A. G., Boutanaev A. M., Sokolov S. L., Artem'eva O. A., Nikanova D. A., Zinovieva N. A., Brovko F. A. Exotoxin diversity of *Staphylococcus aureus*

isolated from milk of cows with subclinical mastitis in Central Russia. *J Dairy Sci.* 2018. V. 101 (5). P. 4325–4331.

246. Futosi K., Fodor S., Mócsai A. Neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. *Int Immunopharmacol.* 2013. V. 17 (3). P. 638–650.

247. Futosi K., Fodor S., Mócsai A. Reprint of neutrophil cell surface receptors and their intracellular signal transduction pathways. *Int Immunopharmacol.* 2013. 17 (4). P. 1185–1197.

248. Gabadage K., Chirino-Trejo M., Campbell J., Luby C. Efficacy of recombinant bovine epidermal growth factor in the treatment of experimental subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis in a ewe model. *Vet Rec Open.* 2017. V. 4 (1): e000179.

249. Ganda E. K., Bisinotto R. S., Decter D. H., Bicalho R. C. Evaluation of an On-Farm Culture System (Accumast) for fast identification of milk pathogens associated with clinical mastitis in dairy cows. *PLoS One.* 2016. V. 11 (5): e0155314.

250. Giampieri F., Quiles J. L., Orantes-Bermejo F. J., Gasparri M., Forbes-Hernandez T. Y., Sánchez-González C., Llopis J., Rivas-García L., Afrin S., Varela-López A., Cianciosi D., Reboledo-Rodríguez P., Fernández-Piñar C. T., Iglesias R. C., Ruiz R., Aparicio S., Crespo J., Dzul Lopez L., Xiao J., Battino M. Are by-products from Beeswax recycling process a new promising source of bioactive compounds with biomedical properties? *Food Chem Toxicol.* 2018. V. 112. P. 126–133.

251. Godden S. M., Royster E., Timmerman J., Rapnicki P., Green H. Evaluation of an automated milk leukocyte differential test and the California Mastitis Test for detecting intramammary infection in early- and late-lactation quarters and cows. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (8). P. 6527–6544.

252. Gogoi-Tiwari J., Babra Waryah C., Sunagar R., Veeresh H. B., Nuthanalakshmi V., Preethirani P. L., Sharada R., Isloor S., Bhat A., Al-Salami H., Hegde N. R., Mukkur T. K. Typing of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis cases in Australia and India. *Aust Vet J.* 2015. V. 93 (8). P. 278–282.

253. Gogoi-Tiwari J., Waryah C. B., Eto K. Y., Tau M., Wells K., Costantino P., Tiwari H. K., Isloor S., Hegde N., Mukkur T. Relative distribution of virulence-associated factors among Australian bovine *Staphylococcus aureus* isolates: Potential relevance to development of an effective bovine mastitis vaccine. *Virulence*. 2015. V. 6 (5). P. 419–423.

254. Gogoi–Tiwari J., Williams V., Waryah C. B., Eto K. Y., Tau M., Costantino P., Tiwari H. K., Mukkur T. Comparative studies of the immunogenicity and protective potential of biofilm vs planktonic *Staphylococcus aureus* vaccine against bovine mastitis using non-invasive mouse mastitis as a model system. *Biofouling*. 2015. V. 31 (7). P. 543–554.

255. Goldstone R. J., Harris S., Smith D. G. Genomic content typifying a prevalent clade of bovine mastitis-associated *Escherichia coli*. *Sci Rep*. 2016. V. 6. P. 30115.

256. Gomes F., Henriques M. Control of bovine mastitis: Old and recent therapeutic approaches. *Curr Microbiol*. 2016. V. 72 (4). P. 377–382.

257. Gomes F., Saavedra M. J., Henriques M. Bovine mastitis disease/pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms. *Pathog Dis*. 2016. V. 74 (3): ftw006.

258. Gonçalves I. C., Henriques P. C., Seabra C. L., Martins M. C. The potential utility of Chitosan micro/nanoparticles in the treatment of gastric infection. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2014. V. 12 (8). P. 981–992.

259. Gonçalves J. L., Lee S. H., de Paula Arruda E., Pedroso Galles D., Camargo Caetano V., Fernandes de Oliveira C. A., Fernandes A. M., Veiga dos Santos M. Biofilm-producing ability and efficiency of sanitizing agents against *Prototheca zopfii* isolates from bovine subclinical mastitis. *J Dairy Sci*. 2015. V. 98 (6). P. 3613–3621.

260. Gonçalves J. L., Lyman R. L., Hockett M., Rodriguez R., Dos Santos M. V., Anderson K. L. Using milk leukocyte differentials for diagnosis of subclinical bovine mastitis – CORRIGENDUM. *J Dairy Res*. 2017. V. 84 (4). P. 496–497.

261. Gonçalves J. L., Lyman R. L., Hockett M., Rodriguez R., Dos

Santos M. V., Anderson K. L. Using milk leukocyte differentials for diagnosis of subclinical bovine mastitis. *J Dairy Res.* 2017. V. 84 (3). P. 309–317.

262. Gonçalves J. L., Tomazi T., Barreiro J. R., Beuron D. C., Arcari M. A., Lee S. H., Martins C. M., Araújo Junior J. P., dos Santos M. V. Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *Vet J.* 2016. V. 209. P. 87–92.

263. Gordon S. Phagocytosis: An immunobiologic process. *Immunity.* 2016. V. 44 (3). P. 463–475.

264. Groot A. C. Propolis: a review of properties, applications, chemical composition, contact allergy, and other adverse effects. *Dermatitis.* 2013. V. 24 (6). P. 263–82.

265. Grzesiak B., Kołodziej B., Głowacka A., Krukowski H. The Effect of some natural essential oils against bovine mastitis caused by *Prototheca zopfii* isolates in vitro. *Mycopathologia.* 2018. V. 183 (3). P. 541–550.

266. Guarín J. F., Ruegg P. L. Short communication: Pre- and postmilking anatomical characteristics of teats and their associations with risk of clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (10). P. 8323–8329.

267. Gurao A., Kashyap S. K., Singh R. β -defensins: An innate defense for bovine mastitis. *Vet World.* 2017. V. 10 (8). P. 990–998.

268. Hagiwara S., Mori K., Nagahata H. Predictors of fatal outcomes resulting from acute *Escherichia coli* mastitis in dairy cows. *J Vet Med Sci.* 2016. V. 78 (5). P. 905–908.

269. Hamid S., Bhat M. A., Mir I. A., Taku A., Badroo G. A., Nazki S., Malik A. Phenotypic and genotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *Vet World.* 2017. V. 10 (3). P. 363–367.

270. Hassan H. J. Variations in milk composition of some farm animals resulted by sub-clinical mastitis in Al-Diwania province. 2013 Bas. J. Vet. Res. V. 12 (2). P. 17–24.

271. Hata E. Bovine mastitis outbreak in Japan caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* New York/Japan clone. *J Vet Diagn Invest.* 2016. V. 28 (3). P. 291–298.

272. Havsteen B. H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids // *Pharmacol. Therap.* 2002. V. 96. № 2–3. P. 67–202.

273. Herry V., Gitton C., Tabouret G., Répérant M., Forge L., Tasca C., Gilbert F. B., Guitton E., Barc C., Staub C., Smith D. G. E., Germon P., Foucras G., Rainard P. Local immunization impacts the response of dairy cows to *Escherichia coli* mastitis. *Sci Rep.* 2017. V. 7 (1). P. 3441.

274. Herve L., Quesnel H., Lollivier V., Boutinaud M. Regulation of cell number in the mammary gland by controlling the exfoliation process in milk in ruminants. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (1). P. 854–863.

275. Hiitiö H., Vakkamäki J., Simojoki H., Autio T., Junnila J., Pelkonen S., Pyörälä S. Prevalence of subclinical mastitis in Finnish dairy cows: changes during recent decades and impact of cow and herd factors. *Acta Vet Scand.* 2017. V. 59 (1). P. 22.

276. Hinthong W., Pumipuntu N., Santajit S., Kulpeanprasit S., Buranasinsup S., Sookrung N., Chaicumpa W., Aiumurai P., Indrawattana N. Detection and drug resistance profile of *Escherichia coli* from subclinical mastitis cows and water supply in dairy farms in Saraburi Province, Thailand. *PeerJ.* 2017. V. 5:e3431.

277. Hisaeda K., Koshiishi T., Watanabe M., Miyake H., Yoshimura Y., Isobe N. Change in viable bacterial count during preservation of milk derived from dairy cows with subclinical mastitis and its relationship with antimicrobial components in milk. *J Vet Med Sci.* 2016. V. 78 (8). P. 1245–1250.

278. Hong S., Kim M. J., Park S., Lee S., Lee J., Lee J. Effects of hydrogen-donating or metal-chelating antioxidants on the oxidative stability of organogels made of beeswax and grapeseed oil exposed to light irradiation. *J Food Sci.* 2018. V. 83 (4). P. 885–891.

279. Hoque M. N., Das Z. C., Talukder A. K., Alam M. S., Rahman A. N. Different screening tests and milk somatic cell count for the prevalence of subclinical

bovine mastitis in Bangladesh. *Trop Anim Health Prod.* 2015. V. 47 (1). P. 79–86.

280. Hosnedlova B., Kepinska M., Skalickova S., Fernandez C., Ruttkay-Nedecky B., Malevu T. D., Sochor J., Baron M., Melcova M., Zidkova J., Kizek R. A Summary of New Findings on the Biological Effects of Selenium in Selected Animal Species-A Critical Review. *Int J Mol Sci.* 2017. V. 18 (10): E2209.

281. Huang S., Zhang C. P., Wang K., Li G. Q., Hu F. L. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules.* 2014. V. 19 (12). P. 19610–19632.

282. Hughes K., Watson C. J. The Mammary Microenvironment in Mastitis in Humans, Dairy Ruminants, Rabbits and Rodents: A One Health Focus. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2018. V. 23 (1-2). P. 27–41

283. Ingman W. V., Glynn D. J., Hutchinson M. R. Inflammatory mediators in mastitis and lactation insufficiency. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2014. V. 19 (2). P. 161–167.

284. Isaac P., Bohl L. P., Breser M. L., Orellano M. S., Conesa A., Ferrero M. A., Porporatto C. Commensal coagulase-negative Staphylococcus from the udder of healthy cows inhibits biofilm formation of mastitis-related pathogens. *Vet Microbiol.* 2017. V. 207. P. 259–266.

285. Ismail Z. B. Mastitis vaccines in dairy cows: Recent developments and recommendations of application. *Vet World.* 2017. V. 10 (9). P. 1057–1062.

286. Jamali H., Barkema H. W., Jacques M., Lavallée-Bourget E. M., Malouin F., Saini V., Stryhn H., Dufour S. Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2018. V. 101 (6). P. 4729–4746.

287. Jondal M., Holm G., Wiqzell H. Surface markers on human T and B lymphocytes. I. A large population of lymphocytes forming nonimmune rosettes with sheep red blood cells. *J. Exp. Med.* 1972. V. 136. № 2. P. 207–218.

288. Jong A., Garch F. E., Simjee S., Moyaert H., Rose M., Youala M., Siegwart E. VetPath Study Group. Monitoring of antimicrobial susceptibility of udder pathogens recovered from cases of clinical mastitis in dairy cows across Europe: VetPath results. *Vet Microbiol.* 2018. V. 213. P. 73–81.

289. Kaczorek E., Małaczewska J., Wojcik R., Siwicki A. K. Biofilm production and other virulence factors in *Streptococcus* spp. isolated from clinical cases of bovine mastitis in Poland. *BMC Vet Res.* 2017. V. 13 (1). P. 398.
290. Kalorey D. R., Kolte R. M., Dhoot V. M., Dakshinkar N. P., Harte S. D. Not antibiotic treatment for subclinical mastitis in cows. *Indian Journal of Veterinary Medicine.* 1993. V. 1. № 3. P. 284–286.
291. Kandeel S.A., Morin D. E., Calloway C. D., Constable P. D. Association of California Mastitis Test Scores with intramammary infection status in lactating dairy cows admitted to a veterinary teaching hospital. *J Vet Intern Med.* 2018. V. 32 (1). P. 497–505.
292. Kang S. J., Cho Y. I., Kim K. H., Cho E. S. Proteomic analysis to elucidate the antibacterial action of silver ions against bovine mastitis pathogens. *Biol Trace Elem Res.* 2016. V. 171 (1). P. 101–106.
293. Kano R., Sato A., Sobukawa H., Sato Y., Ito T., Suzuki K., Hasegawa A., Kamata H. Short communication: ELISA system for screening of bovine mastitis caused by *Prototheca zopfii*. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (8). P. 6590–6593.
294. Karthikeyan A., Radhika G., Aravindhakshan T. V., Anilkumar K. Expression profiling of innate immune genes in milk somatic cells during subclinical mastitis in crossbred dairy cows. *Anim Biotechnol.* 2016. V. 27 (4). P. 303–309.
295. Katzenmeyer K. N., Szott L. M., Bryers J. D. Artificial opsonin enhances bacterial phagocytosis, oxidative burst and chemokine production by human neutrophils. *Pathog Dis.* 2017. V. 75(6): ftx075.
296. Kawai K., Korematsu K., Akiyama K., Okita M., Yoshimura Y., Isobe N. Dynamics of lingual antimicrobial peptide, lactoferrin concentrations and lactoperoxidase activity in the milk of cows treated for clinical mastitis. *Anim Sci J.* 2015. V. 86 (2). P. 153–158.
297. Keller D., Sundrum A. Comparative effectiveness of individualised homeopathy and antibiotics in the treatment of bovine clinical mastitis: randomised controlled trial. *Vet Rec.* 2018. V. 182 (14). P. 407.

298. Kempf F., Slugocki C., Blum S. E., Leitner G., Germon P. Genomic comparative study of bovine mastitis *Escherichia coli*. *PLoS One*. 2016. V. 11 (1). P. 147–954
299. Kerch G. The potential of Chitosan and its derivatives in prevention and treatment of age-related diseases. *Mar Drugs*. V. 13 (4). P. 2158–2182.
300. Kester H. J., Sorter D. E., Hogan J. S. Activity and milk compositional changes following experimentally induced *Streptococcus uberis* bovine mastitis. *J Dairy Sci*. 2015. V. 98(2). P. 999–1004.
301. Khoramian B., Vajhi A., Ghasemzadeh-Nava H., Ahrari-Khafi M. S., Bahonar A. Ultrasonography of the supramammary lymph nodes for diagnosis of bovine chronic subclinical mastitis. *Iran J Vet Res*. 2015. V. 16(1). P. 75–77.
302. Kiełczykowska M., Kocot J., Paździor M., Musik I. Selenium – a fascinating antioxidant of protective properties. *Adv Clin Exp Med*. 2018. V. 27 (2). P. 245–255.
303. Kiku Y., Ozawa T., Takahashi H., Kushibiki S., Inumaru S., Shingu H., Nagasawa Y., Watanabe A., Hata E., Hayashi T. Effect of intramammary infusion of recombinant bovine GM-CSF and IL-8 on CMT score, somatic cell count, and milk mononuclear cell populations in Holstein cows with *Staphylococcus aureus* subclinical mastitis. *Vet Res Commun*. 2017. V. 41 (3). P. 175–182.
304. Kim S. E., Kim H. J., Rhee J. K., Park K. Versatile Chemical Derivatizations to Design Glycol Chitosan-Based Drug Carriers. *Molecules*. 2017. V. 22 (10): E1662.
305. Klaas I. C., Zadoks R. N. An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transbound Emerg Dis*. 2017. V. 65. P. 166–185.
306. Kleczkowski M., Kluciński W., Shaktur A., Sikora J. Concentration of ascorbic acid in the blood of cows with subclinical mastitis. *Pol J Vet Sci*. 2005. V. 8 (2). P. 121–125.
307. Klibi A., Jouini A., Gómez P., Slimene K., Ceballos S., Torres C., Maaroufi A. Molecular characterization and clonal diversity of methicillin-resistant

and –susceptible *Staphylococcus aureus* isolates of milk of cows with clinical mastitis in Tunisia. *Microb Drug Resist.* 2018. 10.1089/mdr.2017.0278.

308. Kolte A. Y., Waghmare S. P., Mode S. G. and Arun Handa Efficacy of Indigenous Herbal Preparation on Altered Milk pH, Somatic Cell Count and Electrolyte Profile *VeterinaryWorld.* 2008. V. 1. (8). P. 238–240.

309. Koop G., van Werven T., Roffel S., Hogeveen H., Nazmi K., Bikker F. J. Short communication: Protease activity measurement in milk as a diagnostic test for clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2015. V. 98 (7). P. 4613–4618.

310. Kot B., Szweda P., Frankowska-Maciejewska A., Piechota M., Wolska K. Virulence gene profiles in *Staphylococcus aureus* isolated from cows with subclinical mastitis in eastern Poland. *J Dairy Res.* 2016. V. 83 (2). P. 228–235.

311. Krapf F.E. Circulating immune complexes in HIV – infected persons. *Klin Wochenschr.* 1990. № 3. V. 68 (6).– P. 299–302.

312. Król J., Wanecka A., Twardoń J., Mrowiec J., Dropińska A., Bania J., Podkowik M., Korzeniowska–Kowal A., Paściak M. Isolation of *Staphylococcus microti* from milk of dairy cows with mastitis. *Vet Microbiol.* 2016. V. 182. P. 163–169.

313. Krömker V., Leimbach S. Mastitis treatment – Reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reprod Domest Anim.* 2017. V. 52 (Suppl 3). P. 21–29.

314. Ksouri S., Djebir S., Bentorki A. A., Gouri A., Hadeif Y., Benakhla A. Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. *J Mycol Med.* 2017. V. 27 (2). P. 245–249.

315. Kumar C. M. M. R., Pinheiro E. S. C., Gentilini M., Benavides M. L., Santos M. V. Efficacy of a high free iodine barrier teat disinfectant for the prevention of naturally occurring new intramammary infections and clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (5). P. 3930–3939.

316. Kumar N., Manimaran A., Kumaresan A., Sreela L., Patbandha T. K., Tiwari S., Chandra S. Episodes of clinical mastitis and its relationship with duration

of treatment and seasonality in crossbred cows maintained in organized dairy farm. *Vet World*. 2016. V. 9 (1). P. 75–79.

317. Kumar N., Manimaran A., Sivaram M., Kumaresan A., Jeyakumar S., Sreela L., Mooventhana P., Rajendran D. Influence of clinical mastitis and its treatment outcome on reproductive performance in crossbred cows: A retrospective study. *Vet World*. 2017. V. 10 (5). P. 485–492.

318. Kumar S. Natural killer cell cytotoxicity and its regulation by inhibitory receptors. *Immunology*. 2018. V. 154 (3). P. 383–393.

319. Kurek-Górecka A., Rzepecka-Stojko A., Górecki M., Stojko J., Sosada M., Swierczek-Zieba G. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*. 2013. V. 19 (1). P. 78–101.

320. Lai Y. C., Fujikawa T., Maemura T., Ando T., Kitahara G., Endo Y., Yamato O., Koiwa M., Kubota C., Miura N. Inflammation-related microRNA expression level in the bovine milk is affected by mastitis. *PLoS One*. 2017. V. 12 (5). P. 177–182.

321. Leelahapongsathon K., Piroon T., Chaisri W., Suriyasathaporn W. Factors in dry period associated with intramammary infection and subsequent clinical mastitis in early postpartum cows. *Asian–Australas J Anim Sci*. 2016. V. 29 (4). P. 580–585.

322. Leimbach A., Poehlein A., Witten A., Wellnitz O., Shpigiel N., Petzl W., Zerbe H., Daniel R., Dobrindt U. Whole-Genome Draft Sequences of Six Commensal Fecal and Six Mastitis-Associated *Escherichia coli* Strains of Bovine Origin. *Genome Announc*. 2016. V. 4 (4): e00753–16.

323. Leon-Galvan M. F., Barboza-Corona J. E., Lechuga-Arana A. A., Valencia-Posadas M., Aguayo D. D., Cedillo-Pelaez C., Martínez-Ortega E. A., Gutierrez-Chavez A. J. Molecular detection and sensitivity to antibiotics and bacteriocins of pathogens isolated from bovine mastitis in family dairy herds of central Mexico. *Biomed Res Int*. 2015. V. 2015 615153.

324. Levine R.L., Garland D., Oliver C.N. et al. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*. 1990. V. 186.

P. 465–478.

325 Li L., Feng W., Zhang Z., Xue H., Zhao X. Macrolide–lincosamide–streptogramin resistance phenotypes and genotypes of coagulase–positive *Staphylococcus aureus* and coagulase–negative staphylococcal isolates from bovine mastitis. *BMC Vet Res.* 2015. V. 11. P. 168.

326 Lim J. J., Grinstein S., Roth Z. Diversity and versatility of phagocytosis: Roles in innate immunity, tissue remodeling, and homeostasis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017. V. 7. P. 191.

327 Lima S. F., Bicalho M. L. S., Bicalho R. C. Evaluation of milk sample fractions for characterization of milk microbiota from healthy and clinical mastitis cows. *PLoS One.* 2018. V. 13 (3): e0193671.

328 Lima S. F., Teixeira A. G. V., Lima F. S., Ganda E. K., Higgins C. H., Oikonomou G., Bicalho R. C. The bovine colostrum microbiome and its association with clinical mastitis. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (4). P. 3031–3042.

329 Lippolis J. D., Holman D. B., Brunelle B. W., Thacker T. C., Bearson B. L., Reinhardt T. A., Sacco R. E., Casey T. A. genomic and transcriptomic analysis of *Escherichia coli* strains associated with persistent and transient bovine mastitis and the role of colanic acid. *Infect Immun.* 2017. V. 86 (1): e00566–17.

330 Liu G., Liu Y., Ali T., Ferreri M., Gao J., Chen W., Yin J., Su J., Fanning S., Han B. Molecular and Phenotypic Characterization of *Aerococcus viridans* Associated with Subclinical Bovine Mastitis. *PLoS One.* 2015. V. 10 (4): e0125001.

331 Liu L., Yang F., Li X., Luo J., Zhang Z., Li H. Whole–Genome Sequence of *Streptococcus parauberis* Strain SP–llh, Isolated from Cows with Mastitis in Western China. *Genome Announc.* 2017. V. 5 (2): e01389–16.

332 Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951. V. 193 (1). P. 265–275.

333 Malinowski E., Gajewski Z. Mastitis and fertility disorders in cows. *Pol J Vet Sci.* 2010. V. 13 (3). P. 555–560.

334 Marques V. F., Motta C. C., Soares B. D., Melo D. A., Coelho S. M., Coelho I. D., Barbosa H. S., Souza M. M. Biofilm production and beta-lactamic resistance in Brazilian *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis. *Braz J Microbiol.* 2017. V. 48 (1). P. 118–124.

335 Martin K. R., Ohayon D., Witko-Sarsat V. Promoting apoptosis of neutrophils and phagocytosis by macrophages: novel strategies in the resolution of inflammation. *Swiss Med Wkly.* 2015. V. 145: w14056.

336 Martínez-Abad A., Lagarón J. M., Ocio M. J. Antimicrobial Beeswax coated polylactide films with silver control release capacity. *Int J Food Microbiol.* 2014. V. 174. P. 39–46.

337 Mavangira V., Gandy J. C., Zhang C., Ryman V. E., Daniel Jones A., Sordillo L. M. Polyunsaturated fatty acids influence differential biosynthesis of oxylipids and other lipid mediators during bovine coliform mastitis. *J Dairy Sci.* 2015. V. 98 (9). P. 6202–6215.

338 McGarry T., Biniecka M., Veale D. J., Fearon U. Hypoxia, oxidative stress and inflammation. *Free Radic Biol Med.* 2018. pii: S0891–5849.

339 Mehmeti I., Behluli B., Mestani M., Ademi A., Nes I. F., Diep D. B. Antimicrobial resistance levels amongst staphylococci isolated from clinical cases of bovine mastitis in Kosovo. *J Infect Dev Ctries.* 2016. V. 10 (10). P. 1081–1087.

340 Mello P. L., Moraes Riboli D. F., Pinheiro L., de Almeida Martins L., Vasconcelos Paiva Brito M. A., Ribeiro de Souza da Cunha M. de L. Detection of enterotoxigenic potential and determination of clonal profile in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative staphylococci isolated from bovine subclinical mastitis in different brazilian states. *Toxins (Basel).* 2016. V. 8 (4). P. 104.

341 Mohsenzadeh M., Ghazvini K., Azimian A. Frequency of specific agr groups and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in the northeast of Iran. *Vet Res Forum.* 2015. V. 6 (4). P. 295–299.

342 Montironi I. D., Cariddi L. N., Reinoso E. B. Evaluation of the antimicrobial efficacy of *Minthostachys verticillata* essential oil and limonene against

Streptococcus uberis strains isolated from bovine mastitis. *Rev Argent Microbiol.* 2016. V. 48 (3). P. 210–216.

343 Moreira L. H., de Souza J. C. P., de Lima C. J., Salgado M. A. C., Fernandes A. B., Andreani D. I. K., Villaverde A. B., ZBngaro R. A. Use of photodynamic therapy in the treatment of bovine subclinical mastitis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018. V. 21. P. 246–251.

344 Mudaliar M., Tassi R., Thomas F. C., McNeilly T. N., Weidt S. K., McLaughlin M., Wilson D., Burchmore R., Herzyk P., Eckersall P. D., Zadoks R. N. Mastitomics, the integrated omics of bovine milk in an experimental model of *Streptococcus uberis* mastitis: 2. Label-free relative quantitative proteomics. *Mol Biosyst.* 2016. V. 12 (9). P. 2748–2761.

345 Mushtaq S., Shah A. M., Shah A., Lone S. A., Hussain A., Hassan Q. P., Ali M. N. Bovine mastitis: An appraisal of its alternative herbal cure. *Microb Pathog.* 2018. V. 114. P. 357–361.

346 Nagasawa Y., Kiku Y., Sugawara K., Tanabe F., Hayashi T. Exfoliation rate of mammary epithelial cells in milk on bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus* is associated with bacterial load. *Anim Sci J.* 2018. V. 89 (1). P. 259–266.

347 Notcovich S., deNicolo G., Williamson N. B., Grinberg A., Lopez-Villalobos N. Petrovski K. R. The ability of four strains of *Streptococcus uberis* to induce clinical mastitis after intramammary inoculation in lactating cows. *N Z Vet J.* 2016. V. 64 (4). P. 218–223.

348 Olivares-Pérez J., Kholif A. E., Rojas-Hernández S., Elghandour M. M., Salem A. Z., Bastida A. Z., Velázquez-Reynoso D., Cipriano-Salazar M., Camacho-Díaz L. M., Alonso-Fresán M. U., DiLorenzo N. Prevalence of bovine subclinical mastitis, its etiology and diagnosis of antibiotic resistance of dairy farms in four municipalities of a tropical region of Mexico. *Trop Anim Health Prod.* 2015. V. 47 (8). P. 1497–504.

349 Oryan A., Alemzadeh E., Moshiri A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. *Biomed Pharmacother.* 2018. V. 98. P. 469–483.

350 Osman K. M., El–Enbaawy M. I., Ezzeldin N. A., Hussein H. M. Nitric oxide and lysozyme production as an impact to *Clostridium perfringens* mastitis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2010. V. 33 (6). P. 505–511.

351 Osman K. M., Hassan H. M., Ibrahim I. M., Mikhail M. M. The impact of staphylococcal mastitis on the level of milk IL–6, lysozyme and nitric oxide. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2010. V. 33 (1). P. 85–93.

352 Otter A, Wright T, Leonard D, Richardson M, Ayling R. *Mycoplasma bovis* mastitis in dry dairy cows. *Vet Rec.* 2015. V. 177 (23). P. 601–602.

353 Owens W. E., Nsckerson S. C., Doddie R. L. Watts Combination therapy increases cure rates for bovine mastitis. *Louisiana Agriculture.* 1989. V. 20. № 2. P. 6–7.

354 Padmaja R. J., Halami P. M. Taming C–terminal peptides of *Staphylococcus aureus* leukotoxin M for B–cell response: Implication in improved subclinical bovine mastitis diagnosis and protective efficacy in vitro. *Toxicon.* 2016. V. 119. P. 99–105.

355 Paixão M. G., Abreu L. R., Richert R., Ruegg P. L. Milk composition and health status from mammary gland quarters adjacent to glands affected with naturally occurring clinical mastitis. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (9). P. 7522–7533.

356 Parykov V. A., Klimov N. T., Romanenko A. I. Mastitis in cows. *Veterinary Medicine.* 2000. № 11. P. 34–37.

357 Paudyal S., Maunsell F., Richeson J., Risco C., Donovan A., Pinedo P. Periparturition rumination dynamics and health status in cows calving in hot and cool seasons. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (11). P. 9057–9068.

358 Paul W. E. *Fundamental immunology* // Third Ed., Raven Press. New York, 1993. P. 1489.

359 Pecka–Kiełb E., Vasil M., Zachwieja A., Zawadzki W., Elečko J., Zigo F., Illek J., Farkašová Z. An effect of mammary gland infection caused by

Streptococcus uberis on composition and physicochemical changes of cows' milk. *Pol J Vet Sci.* 2016. V. 19 (1). P. 49–55.

360 Persson Waller K., Hårdemark V., Nyman A. K., Duse A. Veterinary treatment strategies for clinical mastitis in dairy cows in Sweden. *Vet Rec.* 2016. V. 178 (10). P. 240.

361 Persson Y., Katholm J., Landin H., Mörk M. J. Efficacy of enrofloxacin for the treatment of acute clinical mastitis caused by *Escherichia coli* in dairy cows. *Vet Rec.* 2015. V. 176 (26). P. 673.

362 Peters M. D., Silveira I. D., Fischer V. Impact of subclinical and clinical mastitis on sensitivity to pain of dairy cows. *Animal.* 2015. V. 9 (12). P. 2024–2028.

363 Petzl W., Zerbe H., Günther J., Seyfert H. M., Hussen J., Schuberth H. J. Pathogen-specific responses in the bovine udder. Models and immunoprophylactic concepts. *Res Vet Sci.* 2018. V. 116. P. 55–61.

364 Piepers S., Prenafeta A., Verbeke J., De Visscher A., March R., De Vliegher S. Immune response after an experimental intramammary challenge with killed *Staphylococcus aureus* in cows and heifers vaccinated and not vaccinated with Startvac, a polyvalent mastitis vaccine. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (1). P. 769–782.

365 Piotrowska-Tomala K. K., Bah M. M., Jankowska K., Lukasik K., Warmowski P., Galvao A. M., Skarzynski D. J. Lipopolysaccharides, cytokines, and nitric oxide affect secretion of prostaglandins and leukotrienes by bovine mammary gland during experimentally induced mastitis in vivo and in vitro. *Domest Anim Endocrinol.* 2015. V. 52. P. 90–99.

366 Piotrowska-Tomala K. K., Siemieniuch M. J., Szóstek A. Z., Korzekwa A. J., Woclawek-Potocka I., Galvão A. M., Okuda K., Skarzynski D. J. Lipopolysaccharides, cytokines, and nitric oxide affect secretion of prostaglandins and leukotrienes by bovine mammary gland epithelial cells. *Domest Anim Endocrinol.* 2012. V. 43 (4). P. 278–288.

367 Pomeroy B., Sipka A., Hussen J., Eger M., Schukken Y., Schuberth H. J. Counts of bovine monocyte subsets prior to calving are predictive for postpartum occurrence of mastitis and metritis. *Vet Res.* 2017. V. 48 (1). P. 13.

368 Pongthaisong P., Katawatin S., Thamrongyoswittayakul C., Roytrakul S. Milk protein profiles in response to *Streptococcus agalactiae* subclinical mastitis in dairy cows. *Anim Sci J*. 2016. V. 87(1). P. 92–98.

369 Qiao J., Kwok L., Zhang J., Gao P., Zheng Y., Guo Z., Hou Q., Huo D., Huang W., Zhang H. Reduction of *Lactobacillus* in the milks of cows with subclinical mastitis. *Benef Microbes*. 2015. V. 6 (4). P. 485–490.

370 Ranjan R., Swarup D., Naresh R., Patra R. C. Enhanced erythrocytic lipid peroxides and reduced plasma ascorbic acid, and alteration in blood trace elements level in dairy cows with mastitis. *Vet Res Commun*. 2005. V. 29 (1). P. 27–34.

371 Raspanti C. G., Bonetto C. C., Vissio C., Pellegrino M. S., Reinoso E. B., Dieser S. A., Bogni C. I., Larriestra A. J., Odierno L. M. Prevalence and antibiotic susceptibility of coagulase–negative *Staphylococcus* species from bovine subclinical mastitis in dairy herds in the central region of Argentina. *Rev Argent Microbiol*. 2016. V. 48 (1). P. 50–56.

372 Regev G., Martins J., Sheridan M. P., Leemhuis J., Thompson J., Miller C. Feasibility and preliminary safety of nitric oxide releasing solution as a treatment for bovine mastitis. *Res Vet Sci*. 2018. V. 118. P. 247–253.

373 Reinoso E. B., Lasagno M. C., Odierno L. M. Genetic patterns of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis. *Rev Argent Microbiol*. 2015. V. 47 (2). P. 108–11.

374 Reyes J., Chaffer M., Sanchez J., Torres G., Macias D., Jaramillo M., Duque P. C., Ceballos A., Keefe G. P. Evaluation of the efficacy of intramuscular versus intramammary treatment of subclinical *Streptococcus agalactiae* mastitis in dairy cows in Colombia. *J Dairy Sci*. 2015. V. 98 (8). P. 5294–303.

375 Ribeiro M. S., Gargano R. G., Sabino C. P., Dos Anjos C., Pogliani F. C., Sellera F. P. Clinical challenges of antimicrobial photodynamic therapy for bovine mastitis. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018. V. 21. P. 327.

376 Ristivojević P., Trifković J., Andrić F., Milojković-Opsenica D. Poplar-type Propolis: Chemical Composition, Botanical Origin and Biological Activity. *Nat Prod Commun.* 2015. V. 10 (11). P. 1869–1876.

377 Ronco T., Klaas I. C., Stegger M., Svennesen L., Astrup L. B., Farre M., Pedersen K. Genomic investigation of *Staphylococcus aureus* isolates from bulk tank milk and dairy cows with clinical mastitis. *Vet Microbiol.* 2018. V. 215. P. 35–42.

378 Rosales C., Uribe-Querol E. Phagocytosis: A fundamental process in immunity. *Biomed Res Int.* 2017. V. 2017: 9042851.

379 Rosales C. Fcγ Receptor heterogeneity in leukocyte functional responses. *Front Immunol.* 2017. V. 8. P. 280.

380 Rossi G., Grohn Y.T., Schukken Y.H., Smith R.L. The effect of *Mycobacterium avium* ssp. paratuberculosis infection on clinical mastitis occurrence in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2017. V. 100 (9). P. 7446–7454.

381 Roth Z., Asaf S., Furman O., Lavon Y., Kalo D., Wolfenson D., Leitner G. Subclinical mastitis disrupts oocyte cytoplasmic maturation in association with reduced developmental competence and impaired gene expression in preimplantation bovine embryos. *Reprod Fertil Dev.* 2015. V. 28 (11). P. 1653–1662.

382 Roth Z., Wolfenson D. Comparing the effects of heat stress and mastitis on ovarian function in lactating cows: basic and applied aspects. *Domest Anim Endocrinol.* 2016. V. 56. P. 218–27.

383 Rowbotham R. F., Ruegg P. L. Associations of selected bedding types with incidence rates of subclinical and clinical mastitis in primiparous Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (6). P. 4707–4717.

384 Rumar A. V. Hamza P. A., Choudhuri P. C. Economic implications of treating subclinical mastitis. *Indian Journal of Dairy Science.* 1996. V. 7. № 8. P. 459–641.

385 Sadeghian T., Tavaf Z., Oryan A., Shokouhi R., Pourpak Z., Moosavi-Movahedi A. A., Yousefi R. Structure, chaperone-like activity and allergenicity profile of bovine caseins upon peroxynitrite modification: New evidences underlying mastitis pathomechanisms. *Int J Biol Macromol.* 2018. V. 106. P. 1258–1269.

386 Sadek K., Saleh E., Ayoub M. Selective, reliable blood and milk bio-markers for diagnosing clinical and subclinical bovine mastitis. *Trop Anim Health Prod.* 2017. V. 49 (2). P. 431–437.

387 Sağlam A. G., Şahin M., Çelik E., Çelebi Ö., Akça D., Otlı S. The role of staphylococci in subclinical mastitis of cows and lytic phage isolation against to *Staphylococcus aureus*. *Vet World.* 2017. V. 10 (12). P. 1481–1485.

388 Saishu N., Morimoto K., Yamasato H., Ozaki H., Murase T. Characterization of *Aerococcus viridans* isolated from milk samples from cows with mastitis and manure samples. *J Vet Med Sci.* 2015. V. 77 (9). P. 1037–1042.

389 Santman-Berends I. M., Lam T. J., Keurentjes J., van Schaik G. An estimation of the clinical mastitis incidence per 100 cows per year based on routinely collected herd data. *J Dairy Sci.* 2015. V. 98 (10). P. 6965–6977.

390 Sato T., Usui M., Konishi N., Kai A., Matsui H., Hanaki H., Tamura Y. Closely related methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat, cows with mastitis, and humans in Japan. *PLoS One.* 2017. V. 12 (10). P. 187–319.

391 Savage E., Chothe S., Lintner V., Pierre T., Matthews T., Kariyawasam S., Miller D., Tewari D., Jayarao B. Evaluation of three bacterial identification systems for species identification of bacteria isolated from bovine mastitis and bulk tank milk samples. *Foodborne Pathog Dis.* 2017. V. 14 (3). P. 177–187.

392 Saxena R. K., Dutta G. N., Boragohain J. T. Drug susceptibility and treatment of bovine subclinical mastitis. *Indian Veterinary Journal.* 1993. V. 3. № 6. P. 201–203.

393 Schieber M., Chandel N. S. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol.* 2014. V. 24 (10). P. 453–462.

394 Sforcin J. M. Biological Properties and Therapeutic Applications of Propolis. *Phytother Res.* 2016. V. 30(6). P. 894–905.

395 Shahid M., Gao J., Zhou Y., Liu G., Ali T., Deng Y., Sabir N., Su J., Han B. *Prototheca zopfii* isolated from bovine mastitis induced oxidative stress and apoptosis in bovine mammary epithelial cells. *Oncotarget.* 2017. V. 8 (19). P. 31938–31947.

396 Sharma N., Huynh D. L., Kim S. W., Ghosh M., Sodhi S. S., Singh A. K., Kim N. E., Lee S. J., Hussain K., Oh S. J., Jeong D. K. A PiggyBac mediated approach for lactoferricin gene transfer in bovine mammary epithelial stem cells for management of bovine mastitis. *Oncotarget*. 2017. V. 8 (61). P. 104272–104285.

397 Shimazaki K. I., Kawai K. Advances in lactoferrin research concerning bovine mastitis. *Biochem Cell Biol*. 2017. V. 95(1). P. 69–75.

398 Silanikove N., Merin U., Shapiro F., Leitner G. Subclinical mastitis in goats is associated with upregulation of nitric oxide–derived oxidative stress that causes reduction of milk antioxidative properties and impairment of its quality. *J Dairy Sci*. 2014. V. 97 (6). P. 3449–55.

399 Singh R. S., Bansal B. K., Gupta D. K. Relationship between teat morphological traits and subclinical mastitis in Frieswal dairy cows. *Trop Anim Health Prod*. 2017. V. 49 (8). P. 1623–1629.

400 Sinha M. K., Thombare N. N., Mondal B. Subclinical mastitis in dairy animals: incidence, economics, and predisposing factors. *Scientific World Journal*. 2014. V. 2014: 523984.

401 Skoskiewicz–Malinowska K., Kaczmarek U., Malicka B., Walczak K., Zietek M. Application of Chitosan and Propolis in Endodontic Treatment: A Review. *Mini Rev Med Chem*. 2017. V. 17 (5). 410–434.

402 Soest F. J. S., Abbeloos E., McDougall S., Hogeveen H. Addition of meloxicam to the treatment of bovine clinical mastitis results in a net economic benefit to the dairy farmer. *J Dairy Sci*. 2018. V. 101 (4). P. 3387–3397.

403 Sordillo L. M. Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity. *J Dairy Sci*. 2016. V. 99 (6). P. 4967–4982.

404 Sordillo L. M. Symposium review: Oxylipids and the regulation of bovine mammary inflammatory responses. *J Dairy Sci*. 2018. V. 101 (6). P. 5629–5641.

405 Srednik M. E., Tremblay Y. D. N., Labrie J., Archambault M., Jacques M., Fernández Cirelli A., Gentilini E. R. Biofilm formation and antimicrobial

resistance genes of coagulase–negative staphylococci isolated from cows with mastitis in Argentina. *FEMS Microbiol Lett.* 2017. V. 364 (8): fnx001.

406 Srednik M. E., Usongo V., Lăpine S., Janvier X., Archambault M., Gentilini E.R. Characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from mastitis bovine milk in Argentina. *J Dairy Res.* 2018. V. 85 (1). P. 57–63.

407 Suleiman T. S., Karimuribo E. D., Mdegela R. H. Prevalence of bovine subclinical mastitis and antibiotic susceptibility patterns of major mastitis pathogens isolated in Unguja island of Zanzibar, Tanzania. *Trop Anim Health Prod.* 2018. V. 50 (2). P. 259–266.

408 Sung S. H., Choi G. H., Lee N. W., Shin B. C. External Use of Propolis for Oral, Skin, and Genital Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2017. V. 2017: 8025752.

409 Swain D. K., Kushwah M. S., Kaur M., Dang A. K. Neutrophil dynamics in the blood and milk of crossbred cows naturally infected with *Staphylococcus aureus*. *Vet World.* 2015. V. 8 (3). P. 336–345.

410 Swinkels J. M., Hilkens A., Zoche–Golob V., Krömker V., Buddiger M., Jansen J., Lam T. J. Social influences on the duration of antibiotic treatment of clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2015. V. 98 (4). P. 2369–2380.

411 Tassi R., McNeilly T. N., Sipka A., Zadoks R. N. Correlation of hypothetical virulence traits of two *Streptococcus uberis* strains with the clinical manifestation of bovine mastitis. *Vet Res.* 2015. V. 46. P. 123.

412 Tavakoli M., Pourtaghi H. Molecular detection of virulence genes and multi–drug resistance patterns in *Escherichia coli* (STEC) in clinical bovine mastitis: Alborz province, Iran. *Iran J Vet Res.* 2017. V. 18 (3). P. 208–211.

413 Thomas F. C., Mudaliar M., Tassi R., McNeilly T. N., Burchmore R., Burgess K., Herzyk P., Zadoks R. N., Eckersall P. D. Mastitomics, the integrated omics of bovine milk in an experimental model of *Streptococcus uberis* mastitis: 3. Untargeted metabolomics. *Mol Biosyst.* 2016. V. 12 (9). P. 2762–2769.

414 Thomas F. C., Mullen W., Tassi R., Ramírez–Torres A., Mudaliar M., McNeilly T. N., Zadoks R. N., Burchmore R., David Eckersall P. Mastitomics, the

integrated omics of bovine milk in an experimental model of *Streptococcus uberis* mastitis: 1. High abundance proteins, acute phase proteins and peptidomics. *Mol Biosyst.* 2016. V. 12 (9). P. 2735–2747.

415 Thomas V., de Jong A., Moyaert H., Simjee S., El Garch F., Morrissey I., Marion H., Vallé M. Antimicrobial susceptibility monitoring of mastitis pathogens isolated from acute cases of clinical mastitis in dairy cows across Europe: VetPath results. *Int J Antimicrob Agents.* 2015. V. 46 (1). P. 13–20.

416 Thompson–Crispi K., Atalla H., Miglior F., Mallard B. A. Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics. *Front Immunol.* 2014. V. 5. P. 493.

417 Todorović D., Velhner M., Grego E., Vidanović D., Milanov D., Krnjačić D., Kehrenberg C. Molecular characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates from bovine clinical mastitis and pigs in the Vojvodina Province, Serbia. *Microb Drug Resist.* 2018. V. 24 (1). P. 95–103.

418 Uribe–Querol E., Rosales C. Control of phagocytosis by microbial pathogens. *Front Immunol.* 2017 Oct 24;8:1368.

419 Valcic S., Montenegro G., Mujica A. M., Avila G., Franzblau S., Singh M. P., Maiese W. M., Timmerman B. N. Phytochemical, morphological, and biological investigation of propolis from Central Chile. *Z Naturforsch C.* 1999. V. 54 (5–6). P. 406–416.

420 Van Kessel K. P., Bestebroer J., van Strijp J. A. Neutrophil-mediated phagocytosis of *staphylococcus aureus*. *Front Immunol.* 2014. V. 5. P. 467.

421 Vasquez A. K., Nydam D. V., Capel M. B., Ceglowski B., Rauch B. J., Thomas M. J., Tikofsky L., Watters R. D., Zuidhof S., Zurakowski M.J. Randomized noninferiority trial comparing 2 commercial intramammary antibiotics for the treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (10). P. 8267–8281.

422 Verbeke J., Piccart K., Piepers S., Van Poucke M., Peelman L., De Visscher A., De Vlieghe S. Somatic cell count and milk neutrophil viability of dairy heifers with specific CXCR1 genotypes following experimental intramammary

infection with *Staphylococcus chromogenes* originating from milk. *Vet J.* 2015. V. 204 (3). P. 322–326.

423 Villa–Arcila N. A., Sanchez J., Ratto M. H., Rodriguez–Lecompte J. C., Duque–Madrid P. C., Sanchez–Arias S., Ceballos–Marquez A. The association between subclinical mastitis around calving and reproductive performance in grazing dairy cows. *Anim Reprod Sci.* 2017. V. 185. P. 109–117.

424 Viveros M., Lopez–Ordaz R., Gutiérrez L., Miranda–Calderón J. E., Sumano H. Efficacy assessment of an intramammary treatment with a new recrystallized enrofloxacin vs ceftiofur and parenteral enrofloxacin in dairy cows with nonsevere clinical mastitis. *J Vet Pharmacol Ther.* 2018. V. 41 (1). P. e1–e9.

425 Wall S. K., Wellnitz O., Bruckmaier R. M., Schwarz D. Differential somatic cell count in milk before, during, and after lipopolysaccharide- and lipoteichoic-acid-induced mastitis in dairy cows. *J Dairy Sci.* 2018. V. 101 (6). P. 5362–5373.

426 Wang D., Wang Z., Yan Z., Wu J., Ali T., Li J., Lv Y., Han B. Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China. *Infect Genet Evol.* 2015. V. 31. P. 9–16.

427 Wang K., Jin X. L., Shen X. G., Sun L. P., Wu L. M., Wei J. Q., Marcucci M. C., Hu F. L., Liu J. X. Effects of chinese propolis in protecting bovine mammary epithelial cells against mastitis pathogens-induced cell damage. *Mediators Inflamm.* 2016. V. 2016: 8028291.

428 Wang X., Ma P., Liu J., Zhang Q., Zhang Y., Ding X., Jiang L., Wang Y., Zhang Y., Sun D., Zhang S., Su G., Yu Y. Genome-wide association study in Chinese Holstein cows reveal two candidate genes for somatic cell score as an indicator for mastitis susceptibility. *BMC Genet.* 2015. V. 16. P. 111.

429 Wojdak–Maksymiec K., Szyda J., Strabel T. Parity-dependent association between TNF- α and LTF gene polymorphisms and clinical mastitis in dairy cattle. *BMC Vet Res.* 2013. V. 9. P. 114.

430 Xue H., Wu Z., Li L., Li F., Wang Y., Zhao X. Coexistence of heavy

metal and antibiotic resistance within a novel composite staphylococcal cassette chromosome in a *Staphylococcus haemolyticus* isolate from bovine mastitis milk. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015. V. 59 (9). P. 5788–5792.

431 Yang F., Li H., Zhang S., Wang X. Draft genome sequence of *Streptococcus agalactiae* serotype Ia strain M19, a multidrug-resistant isolate from a cow with bovine mastitis. *Genome Announc.* 2016. V. 4 (6): e01093–16.

432 Yang F., Liu L. H., Li X. P., Luo J. Y., Zhang Z., Yan Z. T., Zhang S. D., Li H. S. Short communication: N-Acetylcysteine-mediated modulation of antibiotic susceptibility of bovine mastitis pathogens. *J Dairy Sci.* 2016. V. 99 (6). P. 4300–4302.

433 Zabaoui N., Fouache A., Trousson A., Baron S., Zellagui A., Lahouel M., Lobaccaro J. A. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chem Phys Lipids.* 2017. V. 207 (Pt B). P. 214–222.

434 Zandkarimi F., Vanegas J., Fern X., Maier C. S., Bobe G. Metabotypes with elevated protein and lipid catabolism and inflammation precede clinical mastitis in prepartal transition dairy cows. *J Dairy Sci.* 2018. V. 101 (6). P. 5531–5548.

435 Zhang D., Zhang Z., Huang C., Gao X., Wang Z., Liu Y., Tian C., Hong W., Niu S., Liu M. The phylogenetic group, antimicrobial susceptibility, and virulence genes of *Escherichia coli* from clinical bovine mastitis. *J Dairy Sci.* 2018. V. 101 (1). P. 572–580.

436 Zhang H., Sun B. Pleiotropic regulations of neutrophil receptors response to sepsis. *Inflamm Res.* 2017. V. 66 (3). P. 197–207.

437 Zhang L., Li Y., Bao H., Wei R., Zhou Y., Zhang H., Wang R. Population structure and antimicrobial profile of *Staphylococcus aureus* strains associated with bovine mastitis in China. *Microb Pathog.* 2016. V. 97. P. 103–109.

438 Zhang S., Piepers S., Shan R., Cai L., Mao S., Zou J., Ali T., De Vliegher S., Han B. Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance profiles in *Streptococcus dysgalactiae* isolated from bovine clinical mastitis in 5 provinces of China. *J Dairy Sci.* 2018. V. 101 (4). P. 3344–3355.