

Зоотехния и ветеринария

УДК 619:616.775.26

DOI: 10.31857/S2500262721060107

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, БИОХИМИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КОРОВ, БОЛЬНЫХ СЕРОЗНОЙ ФОРМОЙ МАСТИТА**Е.В. Нефедова**, кандидат ветеринарных наук,
Н.Н. Шкиль, доктор ветеринарных наук*Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук,
630501, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск
E-mail: nicola07@mail.ru*

Мастит в последние годы стал одним из самых распространенных заболеваний коров во всем мире, что существенно сдерживает темпы увеличения производства молока и наносит огромный экономический ущерб, который складывается из преждевременной выбраковки высокопродуктивных животных, молока (во время и после лечения антибактериальными лекарственными средствами), недополучения телят, а также затрат, связанных с диагностикой и терапией. Применение препарата, содержащего наночастицы серебра, арговит позволяет сокращать срок лечения и устранять ущерб от выбраковки молока после проведения лечения. Исследования проводили с целью изучить влияние наночастиц серебра на морфологические, биохимические и иммунологические показатели крови коров больных серозным маститом. Для эксперимента сформировали три группы по 20 голов в каждой: контрольную, состоящую из здоровых особей, и две опытные, включающие коров больных серозной формой мастита. Животным первой опытной группы интрацестерно вводили препарат, содержащий 10 %-ный водный раствор арговита в дозе 10 мл 1 раз в день до исчезновения клинических признаков болезни. Коровам второй опытной группы вводили препарат спектромаст интрацестерно в дозе 10 мл, 2 раз в день в соответствии с инструкцией по его использованию. Использование препарата, содержащего наночастицы серебра, позволяет сократить срок лечения серозного мастита коров в 2 раза. После его применения отмечено повышение уровня лизоцимной активности сыворотки крови с 12,1 % до 17,7 % (на 5,6 %) и бактерицидной активности сыворотки крови с 58,3 % до 62,8 % (на 4,5 %), что указывает на стимулирующее воздействие препарата на неспецифический иммунитет в виде активизации фагоцитоза. Токсических эффектов при проведении лечения коров, больных клинической формой мастита, препаратом, содержащим наночастицы серебра, не наблюдали.

THE EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES ON THE MORPHOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND IMMUNOLOGICAL PARAMETERS OF BLOOD OF COWS WITH A CLINICAL FORM OF MASTITIS**Nefedova E.V., Shkil N.N.***Siberian Federal Research Center of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Sciences
630501, Novosibirskaya obl., Novosibirskii r-n, pos. Краснообск
E-mail: nicola07@mail.ru*

In recent years, mastitis has become one of the most common diseases of cows around the world, which significantly slows down the rate of increase in milk production and causes enormous economic damage, which consists of premature culling of high-yielding cows, milk during and after treatment. Antibacterial drugs, shortage of highly productive offspring - calves, as well as the costs associated with diagnosis and treatment. The use of argovit, a preparation containing silver nanoparticles, makes it possible to shorten the treatment period without any damage from milk rejection after the therapy. The study was carried out to study the effect of silver nanoparticles on the morphological, biochemical and immunological parameters of the blood of cows with serous mastitis. For the experiment, three groups of 20 heads each were formed: a control group consisting of healthy individuals, and two experimental groups, including cows with serous mastitis. The animals of the first experimental group were injected intracysternally with a preparation containing a 10% aqueous solution of argovit in a dose of 10 ml once a day until the clinical signs of the disease disappeared. The cows of the second experimental group were injected with Spectromast intracysternally at a dose of 10 ml, 2 times a day in accordance with the instructions for use of the drug. The results of the research have established that the use of a preparation containing silver nanoparticles can reduce the treatment period for serous mastitis in cows by 2 times. After its application, an increase in the level of lysozyme activity of blood serum (LASK) was noted from 12,1% to 17,7 % (by 5,6%) and bactericidal activity of blood serum (BASK) from 58,3% to 62,8% (by 4,5%), which indicates a stimulating effect of the drug on nonspecific immunity in the form of activation of phagocytosis. No toxic effects were observed during the treatment of cows with clinical mastitis with a preparation containing silver nanoparticles.

Ключевые слова: мастит, серебро, молоко, лечение, кровь**Key words:** mastitis, silver, milk, treatment, blood

Мастит крупного рогатого скота – широко распространенное во всем мире заболевание, одна из наиболее значимых патологий животных [1, 2]. Маститы наносят молочному животноводству значительный экономический ущерб, обусловленный в основном преждевременной выбраковкой животных, уменьшением молочной продуктивности, ухудшением технологических свойств молока, а также затратами на диагностику и лечение [3, 4].

В США и Японии заболеваемость животных маститом составляет 30...60 %, при этом экономический убыток достигает соответственно 1028,4 и 79,1 млн долл. США в год [5, 6, 7]. На территории Российской Федерации воспаление молочной железы фиксируют у 20...30 % коров [8, 9].

В последние годы в качестве противомикробных агентов, противоопухолевых средств, средств диагностики, биомаркеров, клеточных меток и систем достав-

ки лекарств для лечения разнообразных заболеваний широко применяют наночастицы серебра [10]. Это обусловлено их низкой токсичностью для лабораторных животных и высокой бактерицидной активностью в отношении условно-патогенной микрофлоры [11, 12, 13].

Кроме того, все более глобальной проблемой при лечении инфекционных заболеваний становится множественная устойчивость микроорганизмов к лекарственным препаратам, в том числе антибиотикам [14]. Таким образом, существует острая необходимость в поиске и разработке альтернативных, экономичных, эффективных лекарственных средств, способных преодолевать устойчивость к противомикробным препаратам [15].

Цель исследований – изучить влияние наночастиц серебра на морфологические, биохимические и иммунологические показатели крови коров больных серозным маститом для обоснования токсикологической безопасности их применения.

Методика. Работу проводили с 2015 по 2020 гг. в Новосибирской области. Для эксперимента сформировали три группы по 20 голов в каждой: контрольную состоящую из здоровых особей, и две опытные, включающие коров больных серозной формой мастита. Животным первой опытной группы вводили препарат, содержащий 10 %-ный водный раствор арговита в дозе 10 мл 1 раз в день до исчезновения клинических признаков болезни, коровам второй опытной группы – препарат спектрамаст в дозе 10 мл, 2 раз в день в соответствии с инструкцией по его использованию. Выбор антимикробного средства был сделан на основании результатов предварительно проведенных бактериологических исследований секрета молочной железы больных животных. Препараты вводили интрацестернально, предварительно вымя обмывали теплой мыльной водой, соски протирали антибактериальными салфетками.

Препарат арговит, представляет собой комплекс высокодисперсных наночастиц кластерного серебра (12...15 мг/мл) размером от 20 до 80 нм, поливинилпирролидона (200 мг/мл) и воды для инъекций до 1 мл. Он обладает широким спектром антимикробного действия в отношении аэробных и анаэробных, грамотрицательных и грамположительных, аспорогенных и спорообразующих бактерий в виде монокультур и микробных ассоциаций [16].

Действующее вещество препарата спектрамаст – цефтиофура гидрохлорид (125 мг/мл), в качестве вспомогательных соединений в его состав входят микрокристаллический воск (700 мг/мл), олеоил полиоксилглицериды (500 мг/мл), хлопковое масло (до 10 мл).

Диагностику мастита коров проводили согласно «Методическим рекомендациям по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров» (2007). При клиническом исследовании животных отмечали болезненность, увеличение в объеме доли вымени. Секрет молочной железы был водянистым со сгустками и хлопьями казеина. Идентифицированный серозный мастит отличался от застойного отека вымени сильной краснотой кожи, повышением местной температуры тела, болезненностью. Консистенция вымени была плотной, каменистой, у отдельных животных отмечали увеличение надвыменных лимфатических узлов, тогда как при отеке вымени пальпация ткани молочной железы дает тестоватую консистенцию.

Материалом для исследования служила кровь животных до и после применения препаратов. Ее брали до кормления из хвостовой вены с соблюдением правил асептики и антисептики в пробирки K3-EDTA и

Табл. 1. Морфологические показатели крови коров, до и после лечения мастита

Показатель	Контроль	Группа I	
		опытная I	опытная II
Гемоглобин, г/л	98,7±1,1	95,7±0,6 96,4±0,9*	98,4±0,7 101,5±0,4*
Эритроциты, 10 ¹² кл/л	6,7±0,13	5,8±0,7 5,7±0,3*	6,3±0,9 5,8±0,2*
Лейкоциты, 10 ⁹ кл/л	7,6±0,12	13,7±0,6 7,8±0,4*	14,1±0,8 11,1±0,6*
Гранулоциты, 10 ⁹ кл/л	2,3±0,3	1,4±0,1 1,3±0,01*	1,5±0,1 1,4±0,1*
Лимфоциты, 10 ⁹ кл/л	1,9±0,1	5,3±0,2 5,2±0,1*	5,6±0,3 5,5±0,1*
Моноциты, %	2,8±0,1	5,9±0,2 5,7±0,4*	6,1±0,4 6,0±0,2*

¹ в числителе до введения препарата, в знаменателе – после введения;
*различия между величинами показателя до и после введения препарата достоверны при p < 0,05.

Serebrum, с активатором свертываемости. Гематологические и биохимические исследования проводили на приборах Mindray BC-2800 Vet (Франция) и Urit 800 vet (Китай). Показатели неспецифической резистентности организма определяли, руководствуясь методическими рекомендациями ИЭВСиДВ Россельхозакадемии по оценке естественной резистентности сельскохозяйственных животных (2003). Результаты исследований обрабатывали методами вариационной и непараметрической статистики.

Результаты и обсуждение. При лечении серозного мастита коров препаратом арговит средний срок терапии составил 3,1±0,3 суток, что в 2 раза меньше, чем в контрольной группе.

Отмечено снижение воспалительных процессов в организме, характеризующееся выраженным понижением лейкоцитов в первой опытной группе с 13,7±0,6 до 7,8±0,4·10⁹ кл/л (на 56,9 %). Во второй опытной группе, где для терапии серозного мастита коров применяли антибактериальный препарат спектрамаст оно было менее значительным – с 14,1±0,8 до 11,1±0,6·10⁹ кл/л (на 22,3 %). Содержание гемоглобина, эритроцитов, гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов в крови животных первой и второй опытных группах до и после лечения мастита коров изменялось не значительно (табл. 1).

До лечения клинического мастита содержание фермента АЛТ в сыворотке крови коров первой и второй опытных групп превышало верхнюю границу нормы на 6,0 и 3,4 % соответственно. После терапии в первой опытной группе отмечали снижение величины этого показателя, относительно уровня до лечения, на 8,4 % (табл. 2). В то время как во второй опытной группе она оставалась выше контрольных значений на 29,1 %, а по сравнению с исходной величиной, рост составил 3,0 %.

Понижение уровня АЛТ в опытной группе свидетельствует о нормализации функционального состояния печени и, следовательно, об отсутствии токсического эффекта лекарственного препарата арговит на ее клетки [17].

После терапии арговитом у коров отмечено достоверное повышение содержания кальция в крови (на 4,3 %), билирубина (на 1,1 %), фосфора (на 5,5 %), альбумина (на 8,5 %) и мочевины (на 14,7 %), по сравнению с величинами этих показателей до лечения.

В первой и второй опытных группах до терапии се-

Табл. 2. Биохимические показатели сыворотки крови коров, до и после лечения мастита

Показатель	Контроль	Группа I	
		опытная I	опытная II
Фосфор, ммоль/л	1,5±0,03	$\frac{1,8±0,1}{1,9±0,1^*}$	$\frac{2,1±0,2}{2,2±0,1^*}$
Кальций, ммоль/л	2,7±0,02	$\frac{2,3±0,3}{2,4±0,1^*}$	$\frac{2,4±0,2}{2,1±0,1^*}$
Белок, г/л	72,3±1,82	$\frac{65,6±0,7}{66,7±0,3^*}$	$\frac{66,5±0,3}{65,1±0,4^*}$
Щ. фосфатаза, Ед/л	61,0±0,1	$\frac{32,4±0,4}{32,7±0,3^*}$	$\frac{33,4±1,1}{31,7±0,4^*}$
Глюкоза, ммоль/л	3,5±0,01	$\frac{2,6±0,1}{2,5±0,2^*}$	$\frac{2,7±0,1}{2,6±0,2^*}$
Билирубин общий, мкмоль/л	7,8±0,3	$\frac{8,8±0,7}{8,9±0,4^*}$	$\frac{8,6±0,2}{8,9±0,5^*}$
АЛТ, Ед/л	28,9±1,1	$\frac{37,1±0,9}{34,2±0,7^*}$	$\frac{36,2±0,3}{37,3±0,6^*}$
АСТ, Ед/л	43,7±1,5	$\frac{59,7±0,4}{58,1±0,1^*}$	$\frac{58,5±0,2}{58,1±0,7^*}$
Мочевина, ммоль/л	6,9±0,3	$\frac{3,4±0,1}{3,9±0,1^*}$	$\frac{4,1±0,2}{4,3±0,1^*}$
Холестерин, ммоль/л	4,0±0,1	$\frac{4,62±0,3}{4,7±0,1^*}$	$\frac{4,4±0,1}{4,3±0,2^*}$
Креатинин, мкмоль/л	93,2±0,5	$\frac{98,7±0,5}{97,5±0,7^*}$	$\frac{97,7±0,1}{96,5±0,3^*}$
Альбумин, г/л	46,1±0,4	$\frac{44,8±0,3}{48,6±0,1^*}$	$\frac{43,1±0,2}{47,8±0,4^*}$
α-глобулины, %	19,4±0,3	$\frac{21,4±0,1}{19,3±0,1^*}$	$\frac{22,3±0,1}{20,4±0,1^*}$
β-глобулины, %	14,9±0,1	$\frac{15,9±0,1}{15,3±0,1^*}$	$\frac{15,6±0,1}{14,9±0,1^*}$
γ-глобулины, %	28,2±0,3	$\frac{17,9±0,1}{16,8±0,07^*}$	$\frac{17,3±0,01}{16,9±0,03^*}$

¹ в числителе до введения препарата, в знаменателе – после введения;
*различия между величинами показателя до и после введения препарата достоверны при p < 0,05.

розного мастита коров отмечали повышение α-глобулинов, по сравнению с контролем, соответственно на 10,3 и 14,9 %, что случается во время воспалительного процесса из-за раздражения кроветворных органов в результате бурной реакции организма на первичную травму, вызванную физическим, механическим, химическим и биологическим влиянием, вследствие выброса из кровеносного русла в пораженные ткани вымени с последующим поступлением в молоко большого числа лейкоцитов.

После лечения мастита в сыворотке крови коров первой опытной группы отмечали повышение уровня ЛАСК, по сравнению с исходным, на 5,6 %, БАСК – на 4,5 %, что указывает на улучшение иммунного статуса животных (табл. 3). Во второй опытной группе до и после терапии мастита коров выявлено снижение уровня ЛАСК, относительно контроля, на 35,8 % и 34,9 % соответственно. Кроме того, по окончании терапии величина БАСК снизилась, по сравнению с уровнем до лечения, на 4,1 %.

После лечения мастита коров в первой опытной группе отмечено повышение уровня ФИ, относительно величины этого показателя до терапии, на 3,8 %, ФА – на 22,7 %, ФЧ – на 33,8 %, во второй – соответственно на 4,4 %, 3,9 % и 3,3 %. Увеличение активности фагоцитоза можно рассматривать как положительный признак, свидетельствующий об эффективности неспецифического звена клеточного иммунитета. В

Табл. 3. Иммунологические показатели крови до и после лечения мастита коров

Показатель	Контроль	Группа I	
		опытная I	опытная II
БАСК, %	62,3±0,3	$\frac{58,3±1,4}{62,8±3,2^*}$	$\frac{56,4±0,3}{54,1±2,1^*}$
ЛАСК, %	20,9±0,1	$\frac{12,1±0,9}{17,7±0,6^*}$	$\frac{13,4±0,7}{13,6±1,1^*}$
ФИ	7,6±0,2	$\frac{5,2±0,1}{5,4±0,3^*}$	$\frac{5,1±0,4}{5,3±0,3^*}$
ФА, %	69,4±0,2	$\frac{68,7±3,2}{84,3±2,1^*}$	$\frac{65,2±1,8}{67,4±3,4^*}$
ФЧ	8,7±0,1	$\frac{7,1±1,4}{9,5±0,3^*}$	$\frac{6,8±1,7}{7,1±1,9^*}$

¹ в числителе до введения препарата, в знаменателе – после введения;
*различия между величинами показателя до и после введения препарата достоверны при p < 0,05.

целом результаты гематологических и биохимических исследований крови коров при лечении мастита препаратом арговит свидетельствуют об отсутствии его отрицательного воздействия на основные физиологические показатели.

Таким образом, на основании результатов исследований разработан способ лечения серозного мастита коров препаратом, содержащим наночастицы серебра, позволяющий сократить срок лечения в 1,9 раз.

После лечения мастита коров арговитом отмечается повышение уровня ЛАСК в сыворотке крови на 5,6 %, БАСК – на 4,5 %, что указывает на стимулирующее воздействие препарата на неспецифический иммунитет.

По результатам анализа морфологических, биохимических и иммунологических показателей крови коров, больных серозной формой мастита, токсические эффекты препарата, содержащего наночастицы серебра, не установлены.

Литература

- Gomes F., Saavedra M.J., Henriques M. Bovine mastitis disease/pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms // *Pathog Dis.* 2016. Vol. 74. No. 3. P. 6–7. doi: 10.1093/femspd/ftw006.
- Иващук А.С. Система мероприятий по борьбе с маститами коров. М.: Росагропромиздат, 1991. С. 32–33.
- Богуш А.А., Иванов В.Е. Мероприятие по профилактике, диагностике и лечению мастита у коров // *Ветеринария.* 2009. №1. С.37.
- Kalińska A., Jaworski S., Wierzbicki M. Silver and copper nanoparticles-an alternative in future mastitis treatment and prevention? // *Int J Mol Sci.* 2019. Vol. 20. No. 7. P. 1672–1673. doi: 10.3390/ijms20071672.
- Васильев В.В. Экономический ущерб от молока при маститах коров // *Ветеринария.* 2008. №1. С. 33–34.
- Кузьмич Р.Г., Макарова Е.С., Борисенко Г.Н. Изучение антимикробной активности образцов наносеребра в отношении основных возбудителей мастита // *Ученые записки УО ВГАВМ.* 2017. Т. 53, №1. С. 81–85.
- Synthesis of selenium and silver nanobiocomposites and their influence on phytopathogenic bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* / A.I. Perfilova, O.A. Nozhkina, I.A. Graskova, et al. // *Russian Chemical Bulletin, International Edition.* 2018. Vol. 67. No. 1. P. 2–7
- Development of Antimicrobial Nano-Selenium Biocomposite for Protecting Potatoes from Bacterial

- Phytopathogens* / A.I. Perfilova, S.M. Moty'leva, I.V. Klimenkov, et al. // *Nanotechnologies in Russia*. 2017. Vol. 12. No. 9-10. P. 553–558.
9. Adjuvant properties of silver and dimethyl sulfoxide nanoparticles in studying antibacterial activity of antibiotics against *E. coli* / N.N. Shkil, E.V. Nefyodova, N.A. Shkil, et al. // *International journal of agriculture and biological science*. 2020. Vol. 4. P. 119–126. doi: 10.5281/zenodo.4286955.
 10. Эффективность применения препарата, содержащего наночастицы серебра, для терапии субклинического мастита коров / М.А. Леонова, Н.А. Шкиль, В.Ю. Коптев и др. // *Актуальные проблемы и инновации в современной ветеринарной фармакологии и токсикологии*. Витебск. Изд-во УО ВГАВМ, 2015. С. 290–293.
 11. Нефедова Е.В. Адьювантные свойства наночастиц серебра при оценке бактерицидной активности антимикробных препаратов // *Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана, Белорусии и Болгарии*. Новосибирск: Изд-во СФНЦА РАН, 2019. С. 249–252.
 12. Бурмистров В.А., Бурмистров А.В. Биосеребро – здоровью добро! Новосибирск: Изд-во Дилия, 2014. 140 с.
 13. Красочко П.А., Красочко И.А., Станкуть А.Э. Противовирусные свойства препарата на основе наночастиц серебра // *Ветеринарная медицина*. 2013. № 97. С. 526–528.
 14. Соловьева О., Бирюкова Е., Романовская Е. Опыт использования аппарата «Денас» в лечении крупного рогатого скота // *Ветеринария*. 2010. №12. С. 29–30.
 15. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. 528 с.
 16. Серебро в медицине / Е.М. Блажитко, В.А. Бурмистров, А.П. Колесников и др. Новосибирск, Наука-Центр, 2004, 254с.
 17. Биоцидное действие наночастиц серебра / А.М. Кацев, И.Н. Юркова, В.И. Рябушко и др. // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2012. № 1-2 (5-6). С. 46–49.
 18. АЛТ печени повышен что это значит // *Здоровье и здоровый образ жизни* URL: <https://vvrpg.ru/alt-pecheni-povyshen-chno-eto-znachit/> (дата обращения: 23.05.2021).
 19. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных: метод. рекомендации / сост. П.Н. Смирнов, М.И. Гулюкин, Ю.Н. Федоров и др. Новосибирск: Россельхозакадемия Сиб. отделение, ИЭВСиДВ, ВИЭВ, ФГОУ НРИПК АПК, НГАУ, 2003. 32 с.

Поступила в редакцию 27.07.2021
 После доработки 08.09.2021
 Принята к публикации 27.09.2021