

НЕФЕДОВА ЕКАТЕРИНА ВЛАДИМИРОВНА

**ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА МАСТИТОВ И ЭНДОМЕТРИТОВ
КОРОВ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТАКТИКИ И СТРАТЕГИИ ИХ ЛЕЧЕНИЯ**

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Новосибирск 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН)

Научный консультант

доктор ветеринарных наук, доцент
Шкиль Николай Николаевич

Официальные оппоненты:

Сухинин Александр Александрович, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии;

Ряпосова Марина Витальевна, доктор биологических наук, доцент, Ассоциация производителей крупного рогатого скота голштинской породы, заместитель директора по научной работе;

Еремин Сергей Петрович, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет им. Л.Я. Флорентьева», профессор кафедры физиологии, биохимии животных и акушерства

Ведущая организация:

ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»

Защита состоится «26» февраля 2025 г. в «10⁰⁰» часов на заседании диссертационного совета 24.1.211.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского федерального научного центра агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН) по адресу: 630501, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Краснообск, СФНЦА РАН, а/я 463, тел/факс (383) 348-44-62, E-mail: ds.ievsidv@bk.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Сибирской научной сельскохозяйственной библиотеке и на сайте СФНЦА РАН: <https://sfscs.ru>; автореферат размещен на сайте ВАК: <https://vak.minobrnauki.gov.ru>. Автореферат разослан «___» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

А.В. Нефедченко

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В настоящее время в промышленном молочном скотоводстве продолжают оставаться острыми проблемы мастита и воспалительных заболеваний органов размножения у коров, наносящие производителям сельскохозяйственной продукции значительный экономический ущерб.

Согласно ветеринарной отчетности на территории Российской Федерации ежегодно увеличивается процент поголовья животных, переболевших маститом и эндометритом. По данным Международной молочной ассоциации в развитых молочных предприятиях заболевание вымени регистрируют от 20 до 50 случаев на 100 коров в год в зависимости от сезона и территориального расположения хозяйства (Б.Л. Белкин с соавт., 2014). По данным Пахмутова В.М. (2006) в 2006 году на территории Центрального федерального округа мастит зафиксирован у 7,4% коров, в Северо-Западном – у 5,4, Приволжском – у 3,3, Южном – у 15, Уральском – у 4,3, Дальневосточном – у 11 и Сибирском – у 2,4%.

Широкое распространение эндометритов установлено в хозяйствах Западной Сибири, где инцидентность болезней у коров в различные годы колебалась от 25 до 75%, причем выбраковка таких животных достигала 25-35% (П.Н. Никоноров, 1991, 1999; Е.Ю. Смертина с соавт., 2004). У 16,5-77,7% коров регистрировали сочетанное течение эндометритов и маститов (В.И. Рубцов, 1977; М.Н. Хилькевич, 1994, 1998).

К настоящему времени зарегистрировано 256 видов бактерий, играющих этиологическую роль в возникновении и распространении маститов и акушерско-гинекологических патологий у коров. Нередко это происходит за счет интенсификации животноводства, повышения молочной продуктивности коров, что часто сопровождается нарушениями рубцового пищеварения, развитием ацидозов и кетозов, ростом заболевания коров маститом. При этом отмечают изменения в особенностях клинического проявления и течения мастита, видовом составе микроорганизмов, вызывающих его, и их резистентности к применяемым для лечения антибактериальным препаратам (А.В. Горбенко с соавт., 2012; И.М. Донник с соавт., 2014; М.Н. Исакова с соавт., 2023; W. Masoud et al., 2012; D.Wang et al., 2014).

Терапия маститов и острых послеродовых эндометритов коров часто сводится к применению антибиотиков широкого спектра действия, направленных на подавление оппортунистической микрофлоры и устранение признаков воспаления. Бесконтрольное использование антибактериальных препаратов широкого спектра действия приводит к появлению антибиотикорезистентных штаммов со стороны многочисленных бактериальных патогенов человека и животных (J. Murugaiyan et al., 2022; D.C. Nwobodo et al., 2022; В.М. Baymenov et al., 2023; J.D. Fossen et al., 2024; W.R. Miller et al., 2024).

В настоящее время актуальным является изучение этиологической структуры массовых маститов и эндометритов в конкретном хозяйстве, установление ассоциаций и общности микрофлоры, вызывающей указанные патологии. В плане экологии микроорганизмов в конкретной экологической нише перспективным является определение способности бактерий формировать биопленки, а

также определение фенотипической и генотипической резистентности к антибактериальным препаратам.

В связи с этим существует острая необходимость в разработке экономически эффективных, альтернативных антимикробных средств, способных преодолевать устойчивость к противомикробным препаратам.

Степень разработанности темы исследования.

К настоящему времени установлено, что в этиологии маститов и гнойно-катаральных эндометритов коров ключевую роль играют бактерии семейств *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterobacteriaceae*. Способность к образованию биопленок установлена у 52,7% микроорганизмов, выделенных при маститах и гнойно-катаральных эндометритах у коров. Процесс биопленкообразования играет ведущую роль в возникновении данных патологий. Резистентность к антибиотикам у микроорганизмов обусловлена чаще всего фенотипическими и генотипическими признаками за счет формирования генов резистентности, из которых наиболее частыми выявляются гены *MecA* у 22,8% бактерий *S.aureus*, *blaGES* и *blaDHA* – у 15,2 и 13,0% *E.coli*, соответственно.

Одним из перспективных направлений современной науки является создание новых лекарственных средств с помощью нанотехнологии, позволяющих повысить эффективность преодоления лекарственной устойчивости микроорганизмов. Данная технология позволяет создавать полимерные комплексы поверхностно-активных веществ и нанодисперсного серебра, в частности (Г.В. Одегова с соавт., 2003; С.Б. Авакимян, 2005; Е.Ф. Панарин, 2008; О.А. Зейналов с соавт., 2016; Р.М. Arockianathan et al., 2012; А.М. Abdelgawad et al., 2014, 2015; S. Abebe et al., 2015; Е.Ф. Aboelfetoh et al., 2017).

Высокая активность наночастиц серебра в отношении микроорганизмов связана с большой площадью поверхности наноструктур и, как следствие, ростом окислительной возможности ионов серебра, способностью их проникать в клетку и мембрану бактерий, действуя на метаболизм (П.Г. Гладких, 2015; Д.А. Банникова с соавт., 2017; Е.С. Aazam et al., 2016).

Мультирезистентность бактерий к антибиотикам является серьезной проблемой в лечении и профилактике инфекционных заболеваний, их применение способствует развитию устойчивости организма животных к ним.

Имеются литературные сведения о связи детерминирования лекарственной устойчивости и патогенных свойств микроорганизмов. Одним из таких механизмов является бактериальная персистенция, которая проявляется образованием клеток-персистеров, являющихся фенотипическим вариантом изогенной популяции. Наличие в организме персистерных клеток патогенов снижает эффективность антимикробной терапии, вследствие фенотипической устойчивости таких клеток (N.Q. Balaban et al., 2004; R.M.A. El-Baky, 2016; B.G. Andryukov et al., 2020).

Цель и задачи исследований. Целью исследований являлось изучение этиологической структуры маститов и эндометритов коров и определение тактики и стратегии их терапии наночастицами серебра, в том числе влияния на количественный состав условно-патогенной микрофлоры.

Для достижения цели поставлены следующие задачи:

1. Изучить распространение, этиологическую структуру, видовой состав, ассоциации и бактериологическую общность микроорганизмов, вызывающих маститы и послеродовые гнойно-катаральные эндометриты коров. Изучить основные биологические свойства выделенной микрофлоры.

2. Экспериментально изучить антибактериальную активность наночастиц серебра в сравнении с другими дезинфицирующими и антимикробными средствами в отношении референтных штаммов микробов и изолятов, выделенных от коров, являющихся этиологическими агентами маститов и эндометритов.

3. Изучить способность к образованию биопленок, а также количественные показатели адгезивной активности (АА), антилизоцимной активности (АЛА), эффлюкс эффекта у основных этиологических агентов, выделенных от животных, определить их фенотипическую и генотипическую резистентность к антибактериальным препаратам.

4. Разработать рациональные схемы лечения мастита и гнойно-катарального эндометрита коров с помощью лекарственных средств на основе серебра и определить их терапевтическую и экономическую эффективность.

Научная новизна работы. Теоретически обоснована и экспериментально доказана необходимость использования лекарственных средств на основе наночастиц серебра при терапии мастита и акушерско-гинекологических заболеваний у коров, протекающих с участием оппортунистической микрофлоры. Изучена способность к образованию биопленок, а также количественные показатели АА, АЛА, эффлюкс эффекта у основных этиологических агентов, выделенных от животных в сравнении с референтными штаммами бактерий, определена их фенотипическая резистентность к антибактериальным препаратам. При помощи полимеразной цепной реакции в режиме реального времени выявлены гены резистентности к антибиотикам (MecA, blaGES, blaDHA) у фенотипически резистентных бактерий, выделенных от больных животных. Проведен мониторинг динамики формирования приобретенной устойчивости к антибактериальным препаратам у выделенной микрофлоры, а также изучено влияние наночастиц серебра на показатели АЛА, АА и процесса биопленкообразования у выделенной микрофлоры.

Научная новизна исследований подтверждена 14 патентами РФ: «Способ лечения серозного мастита крупного рогатого скота» (№ 2598338 от 20.09.2016), «Способ лечения субклинического мастита коров» (№ 2706124 от 14.11.2019), «Способ повышения бактерицидной активности окситетрациклина» (№272909 от 25.05.2020), «Способ терапии послеродового эндометрита крупного рогатого скота»(2735257 от 29.10.2020), «Способ терапии послеродового гнойно-катарального эндометрита коров» (№ 2745582 от 29.03.2021), «Способ терапии катарального мастита коров комплексным препаратом, содержащим наночастицы серебра арговит и димексид» (№ 2757329 от 13.10.2021), «Способ терапии серозного мастита коров комплексным препаратом, содержащим наночастицы серебра арговит и димексид» (№ 2763998 от 12.01.2022), «Способ повышения антибактериальной активности наноча-

стиц серебра в отношении *S.aureus*» (№ 2765284 от 28.01.2022), «Способ повышения антибактериальной активности наночастиц серебра препаратами арговит и диметилсульфоксид в отношении *Streptococcus pyogenes*» (№ 2773398 от 03.06.2022), «Способ борьбы с биопленками *Staphylococcus aureus* препаратом на основе наночастиц серебра и диметилсульфоксида» (№ 2795607 от 05.05.2023), «Способ борьбы с биопленками *E.coli* препаратом, содержащим наночастицы серебра» (№ 2795765 от 11.05.2023), «Способ исследования снижения биопленкообразования *Escherichia coli* лечебной композицией, содержащей наночастицы серебра и цiproфлоксацин» (№ 2822623 от 10.07.2024), «Способ снижения биопленкообразования *Streptococcus pyogenes* препаратом, содержащим наночастицы серебра» (№ 2822551 от 09.07.2024), «Способ исследования снижения биопленкообразования *Staphylococcus aureus* лечебной композицией, содержащей наночастицы серебра и цефтиофур» (№ 2823032 от 17.07.2024).

Теоретическая и практическая значимость. Изучено распространение, уровень заболеваемости и этиологическая структура массовых маститов и послеродовых эндометритов коров в хозяйствах Новосибирской области и определены основные патогены, участвующие в их этиологии.

Определен видовой состав, ассоциации и бактериологическая общность микроорганизмов, вызывающих эти патологии у маточного поголовья. Изучены основные биологические свойства выделенной микрофлоры. В контролируемых опытах изучена способность выделенных микроорганизмов формировать биопленки, определена их фенотипическая резистентность к антибактериальным препаратам, определены количественные показатели АА, АЛА, эффлюкс эффект в сравнении с референтными штаммами бактерий. При помощи молекулярно-генетического метода (ПЦР в режиме реального времени) у фенотипически резистентных бактерий выявлены гены резистентности к цефалоспорином и пенициллинам.

Экспериментально и практически доказано, что применение антибактериального препарата Арговит и лекарственной композиции Арговит-Д, наиболее корректно воздействует на микробиоценозы, что позволяет усовершенствовать терапевтические мероприятия при маститах и акушерско-гинекологической патологии у коров.

Полученные результаты создают перспективы использования препаратов на основе наночастиц серебра в комплексе мероприятий по профилактике и терапии маститов и эндометритов с целью преодоления резистентности к антибиотикам у микроорганизмов, вызывающих данную патологию. Кроме того, они расширяют научные знания относительно спектра неспецифических препаратов для лечения маститов и эндометритов коров.

Подготовленные монографии «Фундаментальные исследования наночастиц серебра в биологии и опыт их применения в медицине, промышленности и сельском хозяйстве» и «Антибиотикорезистентность и пути её преодоления» имеют научно-практическое значение в части изучения наночастиц серебра и

совершенствования методов борьбы с антибиотикорезистентными микроорганизмами.

Разработанные методические рекомендации «Лечение различных форм мастита коров препаратом, содержащим наночастицы серебра» предназначены для использования в работе ветеринарных специалистов при терапии мастита коров и в научно-исследовательских учреждениях ветеринарного профиля.

Методология и методы исследования. Методологическая основа проведённых научных исследований базировалась на совокупности комплексных подходов путем анализа и обобщения полученных результатов. При проведении лабораторных, экспериментальных и производственных опытов применялись микробиологические, молекулярно-генетические, гематологические, биохимические, электронно-микроскопические, статистические методы. Более подробно этапы проведения экспериментов отражены в разделе «Материалы и методы исследований».

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности подтверждается проведением исследований на сертифицированном современном оборудовании, статистически значимым количеством проведенных исследований в лабораторных, экспериментальных и научно-производственных условиях. Методология диссертационной работы спланирована в соответствии с ее структурой и задачами исследования.

Результаты диссертационной работы доложены и опубликованы на научно-практических конференциях регионального, всероссийского, международного значения: на Международной научно-практической конференции молодых учёных, аспирантов и студентов «Вклад молодых учёных в аграрную науку» (Самара, 2015); XIV Сибирской ветеринарной конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2015); Международной научно-практической конференции учёных, аспирантов и студентов «Вклад молодых учёных в аграрную науку» (Самара, 2016); III Всероссийской научной конференции «Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий» (Новосибирск, 2018); Научно-практической конференции преподавателей, аспирантов, магистрантов и студентов «Актуальные проблемы агропромышленного комплекса» (Новосибирск, 2018); II Национальной (Всероссийской) конференции «Теория и практика современной аграрной науки» (Новосибирск, 2019); Международной научно-практической конференции учёных, аспирантов и студентов «Вклад молодых учёных в аграрную науку» (Самара, 2019); XXII Международной научно-практической конференции, посвященной 50-летию образования Сибирского отделения Российской академии сельскохозяйственных наук и 70-летию Якутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук «Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана, Белоруссии и Болгарии» (Новосибирск, 2019); Новости науки и АПК: сб. IX междунар. конф. Инновационные разработки молодых учёных – развитию агропромышленного комплекса (Новосибирск, 2019); VIII Международной научно-практической конференции «Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых»

(Краснообск, 2021); V Международной научно-практической конференции «Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства» (Донбасс, 2022); Международной научно-практической конференции «Состояние и перспективы индустриально-инновационного развития агропромышленного комплекса республики Казахстан» (Казахстан, 2022); Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и пути их решения» (Витебск, 2023); XXV Международном научно-практическом форуме «Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, стран СНГ и BRICS» (Новосибирск, 2023); VI Международной научно-практической конференции «Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства» (Донбасс, 2023); Международной научно-практической конференции «Ветеринарная медицина в обеспечении биологической безопасности животноводства Сибири» (Новосибирск, 2024).

Публикации научных исследований. По материалам диссертации опубликовано 66 научных работ, в том числе 18 – в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 8 статей – в базах, индексируемых Web of Science и Scopus, 2 монографии, получено 14 патентов РФ.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 392 страницах компьютерного текста и включает в себя введение, обзор литературы, собственные исследования, материалы и методы исследований, выводы, практические предложения, список литературы и приложения. Работа иллюстрирована 73 таблицами, 80 рисунками. Список литературы включает 501 источник, в том числе 234 источника иностранных авторов.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Распространение, особенности проявления и этиологическая структура маститов и послеродовых эндометритов коров. Видовой состав, основные биологические свойства, включая особенности персистенции, способность к образованию биопленок, фенотипическая и генотипическая резистентность выделенной микрофлоры к антибиотикам.

2. Теоретическое и экспериментальное обоснование схемы лечения маститов и послеродовых эндометритов при помощи препарата Арговит и лекарственной композиции Арговит-Д, их влияние на персистентные свойства и способность к образованию биопленок у выделенной микрофлоры.

3. Терапевтическая и экономическая эффективность препарата Арговит и лекарственной композиции Арговит-Д при маститах и гнойно-катаральных эндометритах коров.

Личный вклад автора. Результаты исследований, представленных в диссертационной работе, выполнены соискателем лично. Автором сформулированы цель и задачи исследования, а также выполнены экспериментальные, лабораторные исследования, интерпретированы полученные результаты исследований. Написание и оформление диссертационной работы автором осуществлены лично.

Благодарности. Автор выражает благодарность за консультирование и научно-методическую помощь д.х.н. А.Н. Пестрякову (ФГБОУ ВПО Томский политехнический университет, Томск, Россия), В.А. Бурмистрову (ООО НПО «Вектор-Вита», Новосибирск, Россия), N. Bogdanchikova, D. Garibo (Centrode Nanocienciasy Nanotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico), R. Luna Vazquez-Gomez (Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Baja California, Mexico), M. Maklakova (Facultad de Pedagogía e Innovación Educativa, Universidad Autónoma de Baja California). Отдельная благодарность ведущему научному сотруднику лаборатории биотехнологии-диагностический центр ИЭВСиДВ СФНЦА РАН, д.в.н. А.В. Нефедченко (ФГБУН СФНЦА РАН) за помощь в проведении молекулярных исследований.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы и методы исследований

Работа выполнена в лаборатории по разработке новых методов лечения животных ИЭВСиДВ Сибирского федерального научного центра агробiotехнологий Российской академии наук в период с 2014 по 2024 гг. в соответствии с планом научно-исследовательских работ, а также по гранту РНФ №22-13-20032 «Разработка биологически активных наноматериалов медицинского и ветеринарного назначения».

Диагностику мастита коров проводили, согласно «Методическим рекомендациям по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров» (2007). Материалом для исследования служил секрет молочной железы до и после лечения (n=1478).

Диагностику эндометрита, типирование, определение антибиотикочувствительности изолированных микроорганизмов и лечение больных животных, проводили в соответствии с «Методическими указаниями по диагностике, терапии и профилактике болезней органов размножения у коров и телок» (2005). Материалом для исследования служили пробы влагалищной слизи (n=761) до и после лечения. Отбор влагалищного секрета осуществляли стерильными ватно-марлевыми тампонами, после предварительного тщательного туалета наружных половых органов и корня хвоста, завершив его обработкой тампоном, смоченным 70%-ным этиловым спиртом-ректификатором.

Бактериологические исследования проводили путем посева секретов влагалища и молочной железы на 5%-ный кровяной агар, мясопептонный агар (МПА) с 1%-ной глюкозой, мясопептонный бульон (МПБ), среду Эндо. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов определяли по стандарту ГИСК им. Тарасевича Л.А.

Для оценки влияния антибактериальных препаратов (гентамицин, неомицин, стрептомицин, энрофлоксацин, ципрофлоксацин, офлоксацин, тетрациклин, окситетрациклин, бензилпенициллин, ампициллин) на чувствительность микроорганизмов к антибиотикам использовали референтные штаммы микроорганизмов (*S.aureus* ATCC 25953, *S.epidermidis* ATCC 14990, *S.disgalactiae* ATCC 27957, *S.agalactiae* ATCC 12386, *S.pyogenes* ATCC 19615, *S.enteritidis*

ATCC 13076, *P.vulgaris* ATCC 6380, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922) из «Коллекции культур микроорганизмов» лаборатории болезней молодняка ИЭВСиДВ СФНЦА РАН и ИХБФМ СО РАН. Бактериальную массу культивировали в мясопептонном бульоне с исследуемым препаратом в течение 48-72 ч при температуре $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Исходя из чувствительности каждого вида микроорганизмов, устанавливалась индивидуальная концентрация препарата (С.М. Навашин, 1982).

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, в т.ч. их сочетаниям, которые вносили равными объёмами 0,2 мл, проводили методом последовательных серийных разведений в МПБ при внесении 0,2 мл $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл референтного штамма *E.coli* ATCC 25922 или изолята *E.coli*, *P.vulgaris* ATCC 6380, *P.vulgaris*, *S.aureus* ATCC 25953, *S.aureus*, *S.epidermidis* ATCC 14990, *S.epidermidis*, *S.agalactiae* ATCC 12386, *S.agalactiae*, *S.dysgalactiae* ATCC 27957, *S.dysgalactiae*, *S.pyogenes* ATCC 19615, *S.pyogenes*, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *P.aeruginosa*, *S.enteritidis* ATCC 13076, *S.enteritidis*, выделенных при инфекционном заболевании от крупного рогатого скота с последующим инкубированием в течение 24 ч при температуре $36,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Выделение стафилококков, стрептококков проводили с использованием селективной добавки Staph-Strepto Supplement (Индия). Идентификацию микрофлоры, выделенной от больных коров, осуществляли с учетом культуральных, морфологических и биохимических свойств бактерий по общепринятым методикам: «Определитель бактерий Берджи» (2000), рекомендации Карташовой В.М. (1988), Михайловой Н.Н. (1983). Изучение биохимических свойств бактерий проводили с помощью набора реагентов – пластины биохимические, дифференцирующие энтеробактерии, (ООО НПО «Диагностические системы» г. Нижний Новгород), стрептококки (Стрепто-тест 16 Erba Lachema s.r.o. Чехия), стафилококки (Стафитест- 24 Erba Lachema s.r.o. Чехия).

Чувствительность микрофлоры изучали дискодиффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона («Bio-Rad», США), в соответствии с «Лабораторными методами исследования инфекционной патологии животных» (2008). Диски с антибиотиками помещали на поверхность плотной питательной среды, засеянной суспензией культур исследуемых микроорганизмов. Антибиотикограмму составляли по диаметру зоны задержки роста микроорганизмов. С помощью линейки измеряли диаметр зон задержки роста вокруг дисков со стороны микробного газона, включая диаметр самих дисков, с точностью до одного миллиметра. Зону задержки до 15 мм считали как низкую, до 20 мм – среднюю, более 20 мм – высокую степень (МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (АБП)» от 04.03.2004). Множественную лекарственную устойчивость определяли как устойчивость к трем и более антибактериальным средствам. Адгезивную активность (АА) определяли по методике И.Б. Павловой и др. (1999), антилизоцимную активность (АЛА) по методике О.В. Бухарина и др. (2000). Способность микроорганизмов образовывать биопленки определяли фотометрически по методике G.O'Toole et al. (1998).

Выделение ДНК проводили у фенотипически резистентных культур бактерий, используя «ДНК-экспресс» (НПФ «Литех», Москва). Согласно инструкции изготовителя, полученный супернатант использовали для определения генов резистентности методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РРВ). Использовали наборы реагентов формата Флуоропол-РВ OneStep комплектации (НПФ «Литех», Москва). Определяли резистентность Enterobacteriaceae к защищенным пенициллинам и цефалоспорином по наличию гена blaDHA. Резистентность к карбапенемам-5 (Enterobacteriaceae к карбапенемам, цефалоспорином и пенициллинам – по наличию гена blaGES). Резистентность к цефалоспорином-2 (*S.aureus* к β -лактамным антибиотикам – по наличию гена MecA) (табл. 1).

Таблица 1 – Последовательности праймеров для выявления генов резистентности у изолятов *S.aureus*, *E.coli*, *S.enteritidis*, *P.vulgaris*

Ген	Последовательность праймеров	Литературная ссылка
mecA	CTCAGGTA CTGCTATCCACC CACTTTGGTATATATCTTCACC	Ryffel C. et al. (1990)
blaDHA	AACTTTTCACAGGTGTGCTGGGT CCGTACGCATACTGGCTTTGC	Pérez-Pérez F.J. et al. (2002)
blaDHA	CCAGAATCACAATCGCCACC TATCAGCAGTGGCA GCCGT	Guo Q. et al. (2012)
blaGES	CTGATCGTTTAAGGAATTTT CACACCATCCTGCACTTA	Villa L. et al. (2010)
blaGES	TATGGGGATCTGCCCGATAGA AAAGGCTCACCTTAGGCGAC	Conrad L.S. et al. (2020)
blaGES	CGGTTTCTAGCATCGGGACACAT CCGCCATAGAGGACTTTAGCACAG	Swayne R.L. et al. (2011)

Изучение эффлюкс эффекта определяли у 320 изолятов *S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.dysgalactiae*, *E.coli*, выделенных от коров Сибирской черно-пестрой голштинизированной породы до и после лечения мастита и гнойно-катарального эндометрита препаратами различных фармакологических групп. Для этого использовали метод посева культур микроорганизмов штрихами на Eugonic агар с бромистым этидием (1мг/л). Детекцию культур осуществляли при помощи транслилюминатора по прошествию 16, 24 и 48 часов культивирования.

Изучение терапевтической эффективности препарата Арговит и лекарственной композиции Арговит-Д в производственных условиях проводили на коровах черно-пестрой голштинизированной породы (n=5519 голов).

Гематологические исследования проводили на аппарате Mindray BC 2800 Vet (Франция), биохимические – на анализаторе Urit 800 Vet (Китай) с использованием наборов АО «Вектор-Бест». Показатели неспецифической резистентности организма определяли до и после проведения опытов, согласно Методическим рекомендациям по оценке естественной резистентности сельскохозяйственных животных (ИЭВСиДВ СО РАСХН, 2003). Расчеты экономической эффективности применения препаратов проводили согласно методике И.Н. Никитина (2007). Результаты исследований подвергали статистической обработке с использованием

метода статистического анализа при помощи программы STATISTICA 13.3 (StatSoft. Inc). Накопление, корректировку, систематизацию исходной информации и визуализацию полученных результатов осуществляли в электронных таблицах Microsoft Office Excel (2016).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Изучение этиологической структуры гнойно-катаральных эндометритов и маститов у коров, вызванных условно-патогенной микрофлорой. Видовой состав изолированных микроорганизмов от коров, больных маститом и гнойно-катаральным эндометритом

Анализ данных ветеринарной отчетности по форме 2-Вет, предоставленных Управлением ветеринарии Новосибирской области за 2018-2022 гг., показал широкое распространение маститов и акушерско-гинекологических патологий у коров (рис. 1).

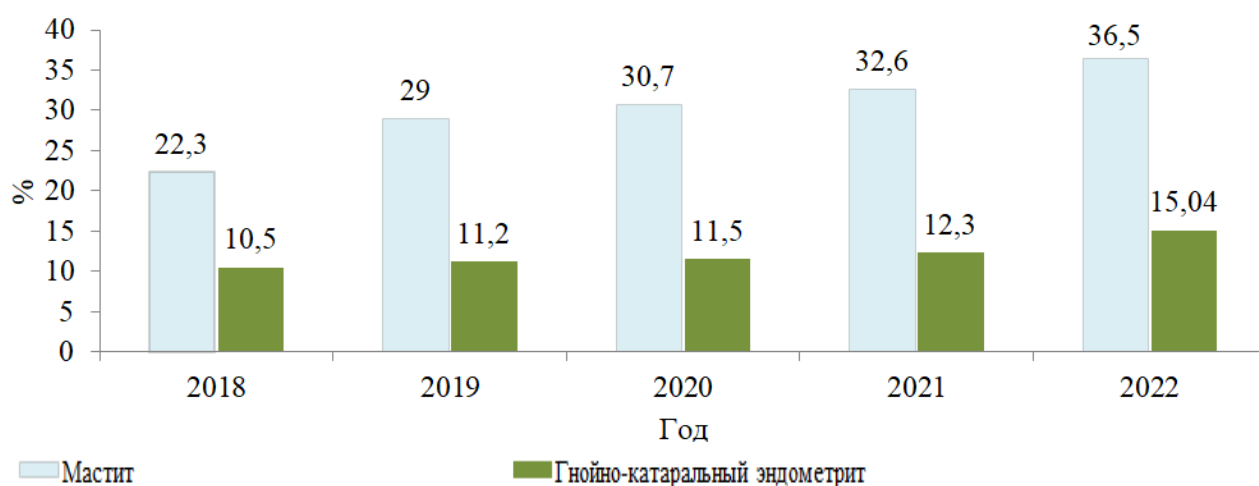


Рисунок 1 – Заболеваемость коров маститами и акушерско-гинекологическими патологиями в Новосибирской области за 2018-2022 гг.

Уровень болезней репродуктивной системы коров за пятилетний период существенно не изменялся и находился в пределах 10,5-15,04% с тенденцией незначительного повышения в 2022 году. В этот же период заболеваемость маститами составляла 22,3-36,5% от общего поголовья.

Для исследования этиологической общности изучаемых болезней были проведены микробиологические исследования проб секрета молочной железы при субклиническом, серозном и катаральном маститах, а также слизи цервикально-вагинального канала при послеродовых эндометритах коров.

В результате из проб молока от коров с различными формами мастита выделили микроорганизмы родов *Staphylococcus* в 51,2%, *Streptococcus* – в 32,3 и *Escherichia* – в 16,5% случаев. При этом в исследуемом молоке наиболее часто присутствовали ассоциации микроорганизмов: *S.aureus* + *S.epidermidis* (57,7%), *S.aureus* + *S.epidermidis* + *E.coli* (17,6%), *S.aureus* + *S.epidermidis* + *E.coli* + *S.pyogenes* (13,3%), *S.pyogenes* + *E.coli* (4,8%), *S.epidermidis* + *S.agalactiae* (4,0%), *S.agalactiae* + *S.disgalactiae* (2,6%). Количество патогенных

штаммов *E.coli* составило 100%, *S.aureus* – 91,7, *S.epidermidis* – 86, *S.disgalactiae* – 84,6, *S.pyogenes* – 74,2 и *S.agalactiae* – 68,9%.

В 2022 г. по сравнению с 2018 г., частота выделения бактерий трех основных семейств *Staphylococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae* статистически значимо изменялась. Так, частота выделения микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* увеличилась на 30,2% (с 13,6% в 2018 г. до 19,5% в 2022 г.; $p<0,05$), а частота выделения бактерий семейства *Staphylococcaceae* и *Streptococcaceae* снизилась – на 6,9% (с 53,9% в 2018 г. до 50,4% в 2022 г.; $p<0,05$) и – на 7,9% (с 32,5% в 2018 г. до 30,1% в 2022 г.; $p<0,05$) соответственно (табл. 2).

Таблица 2 – Частота выделения бактерий семейства *Staphylococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae* при маститах у коров в Новосибирской области по годам

Микроорганизм	2018 г.		2019 г.		2020 г.		2021 г.		2022 г.	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
<i>S.aureus</i>	87	39,4	98	37,8	106	36,6	112	34,6	126	32,7
<i>S.epidermidis</i>	32	14,5	38	14,7	42	14,5	48	14,8	68	17,7
<i>E.coli</i>	30	13,6	38	14,7	45	15,7	55	17,0	75	19,5
<i>S.disgalactiae</i>	30	13,6	35	13,5	40	13,8	47	14,5	49	12,7
<i>S.agalactiae</i>	22	9,9	27	10,4	30	10,4	32	9,9	34	8,8
<i>S.pyogenes</i>	20	9,0	23	8,9	26	9,0	30	9,2	33	8,6

Результаты изучения микробного пейзажа вагинально-маточного содержимого, отобранного при послеродовом гнойно-катаральном эндометрите у коров, показали, что наиболее часто встречались микроорганизмы родов *Staphylococcus* в 33,6%, *Streptococcus* – в 28,0, *Escherichia* – в 13,0, *Salmonella* – в 12,3, *Proteus* – в 10,0 и *Pseudomonas* – в 3,1% проб соответственно. Количество патогенных штаммов *E.coli* составило 98,0%, *S.aureus* 93,7, *S.pyogenes* 89,2, *P.vulgaris* 76,3, *S.enteritidis* 59,6 и *P.aeruginosa* – 47,8%.

Бактериологические исследования биоматериала от коров с послеродовым гнойно-катаральным эндометритом выявили ассоциации, представленные: *S.pyogenes* + *S.aureus* + *P.vulgaris* + *E.coli* (45,9%), *S.pyogenes* + *E.coli* (20,3%), *S.enteritidis* + *E.coli* + *P.vulgaris* (17,5%), *S.aureus* + *E.coli* (8,4%), *S.pyogenes* + *S.aureus* (6,2%), *S.pyogenes* + *S.aureus* + *P.aeruginosa* (1,7%).

Частота выделений бактерий семейства *Staphylococcaceae* (табл. 3) увеличилась на 2,3% (с 33,6% в 2018 г. до 35,9% в 2022 г.; $p<0,05$). Также незначительно возросла частота выделения микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* на 0,5% (с 36,9% в 2018 г. до 37,4% в 2022 г.; $p<0,05$). В это же время регистрировали уменьшение количества частоты выделения микроорганизмов семейства *Streptococcaceae* на 2,7% (с 29,4% в 2018 г. до 26,7% в 2022 г.; $p<0,05$).

Полученные данные подчеркивают важную роль своевременной диагностики маститов и эндометритов коров с целью мониторинга спектра препаратов для повышения эффективности их лечения.

Таблица 3 – Частота выделения бактерий семейства *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterobacteriaceae* при гнойно-катаральных эндометритах у коров в Новосибирской области по годам

Микроорганизм	2018 г.		2019 г.		2020 г.		2021 г.		2022 г.	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
<i>S.aureus</i>	40	33,6	43	32,3	49	32,7	54	33,0	70	35,9
<i>S.pyogenes</i>	35	29,4	39	29,3	42	28,0	45	27,4	52	26,7
<i>E.coli</i>	16	13,4	18	13,5	20	13,3	22	13,4	23	11,8
<i>S.enteritidis</i>	14	11,8	17	12,8	19	12,7	21	12,8	23	11,8
<i>P.vulgaris</i>	12	10,1	14	10,5	16	10,7	16	9,7	18	9,2
<i>P.aeruginosa</i>	2	1,7	2	1,6	4	2,6	6	3,7	9	4,6

**Фенотипическая резистентность микроорганизмов к антибиотикам
у микрофлоры, выделенной от коров больных маститом и
гнойно-катаральным эндометритом**

Частота встречаемости АЛА микроорганизмов семейств *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, выявленных при маститах у коров, составила 86,1%, биопленкообразования – 53,8%, эффлюкс эффекта – 44,9%, АА – 19,8% (табл. 4).

Таблица 4 – Частота выявления показателей фенотипической резистентности микроорганизмов, выделенных при маститах у коров

Микроорганизм	АА		АЛА		Биопленки		Эффлюкс эффект	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
<i>S.aureus</i>	120	21,2	505	89,1	320	56,4	320	56,4
<i>S.epidermidis</i>	36	16,1	188	83,9	120	53,6	130	49,1
<i>S.disgalactiae</i>	38	16,7	190	83,3	126	55,2	110	48,2
<i>S.agalactiae</i>	35	17,4	174	86,6	93	46,3	27	13,4
<i>S.pyogenes</i>	23	15,8	111	76,5	72	49,7	20	13,7
<i>E.coli</i>	45	30,3	122	92,4	74	56,1	65	49,2

При эндометритах у коров частота встречаемости АЛА микроорганизмов семейств *Staphylococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Enterobacteriaceae* составила 88,2%, биопленкообразования – 50,7%, эффлюкс эффекта – 25,0%, АА – 17,6% (табл. 5).

Таблица 5 – Частота выявления показателей фенотипической резистентности микроорганизмов, выделенных при гнойно-катаральном эндометрите у коров

Микроорганизм	АА		АЛА		Биопленки		Эффлюкс эффект	
	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%	кол-во	%
<i>S.aureus</i> (n=256)	46	18,0	237	92,5	147	57,4	130	50,7
<i>S.pyogenes</i> (n=213)	37	17,3	181	85,0	99	46,5	23	10,7
<i>E.coli</i> (n=99)	18	18,2	90	90,9	63	63,6	12	12,1
<i>S.enteritidis</i> (n=94)	16	17,0	80	85,1	39	41,5	14	14,5
<i>P.vulgaris</i> (n=76)	13	17,1	64	84,2	28	36,8	9	11,8
<i>P.aeruginosa</i> (n=23)	4	17,4	19	82,6	10	43,4	3	13,0

Наличие у условно-патогенной микрофлоры резистентности к антибиотикам играет ведущую роль в возникновении хронических инфекций и побочных эффектов у животных.

Генотипическая резистентность микроорганизмов к антибиотикам у микрофлоры, выделенной от коров больных маститом и гнойно-катаральным эндометритом

Данные таблицы 6, показывают увеличение количества генов резистентности *MecA* на 8,6% (с 15,7% в 2018 г. до 24,3% в 2022 г.; $p<0,01$), *blaDHA* – на 12,9% (с 14,5% в 2018 г. до 27,4% в 2022 г.; $p<0,01$), *blaGES* – на 17,7% (с 12,6% в 2018 г. до 30,3% в 2022 г.; $p<0,05$) у микрофлоры, выделенной от коров, больных маститом.

Таблица 6 – Количественные характеристики основных генов резистентности *MecA*, *blaGES*, *blaDHA* по годам у основных возбудителей маститов коров

Год	<i>S.aureus</i>		<i>E.coli</i>			
	<i>MecA</i> (n=140)		<i>blaGES</i> (n=119)		<i>blaDHA</i> (n=124)	
	кол-во исследованных изолятов	% выявления	кол-во исследованных изолятов	% выявления	кол-во исследованных изолятов	% выявления
2018	22	15,7	15	12,6	18	14,5
2019	25	17,9	20	16,8	20	16,1
2020	28	20,0	23	19,3	25	20,2
2021	31	22,1	25	21,0	27	21,8
2022	34	24,3	36	30,3	34	27,4

Как видно из данных, представленных в таблице 7, у *S.aureus* чаще других выявляли ген резистентности *MecA* к антибактериальным препаратам (24,7%). Гены резистентности *blaGES* и *blaDHA* были, выявлены у *E.coli* в 49,0 и 51,0% проб, соответственно.

Таблица 7 – Частота выявления основных генов резистентности к антибактериальным препаратам у основных возбудителей маститов коров

Микроорганизм	Ген	Количество исследованных изолятов	% выявления
<i>S.aureus</i> (n=567)	<i>MecA</i>	140	24,7
<i>E.coli</i> (n=224)	<i>blaGES</i>	119	49,0
	<i>blaDHA</i>	124	51,0

Результаты исследований (табл. 8) показали увеличение частоты выявления генов резистентности *MecA* у *S.aureus* на 32,2% (с 8,9% в 2018 г. до 41,1% в 2022 г.; $p<0,01$). Также отмечено увеличение количества генов резистентности *blaGES* и *blaDHA* у *E.coli* (на 27,3 и 28,0%), у *S.enteritidis* (на 20,7 и 30%), у *P.vulgaris* (на 10,4 и 30%) с 2018 по 2022 г.; $p<0,05$.

Таблица 8 – Количественные характеристики основных генов резистентности *MecA*, *blaGES*, *blaDHA* по годам у основных возбудителей гнойно-катаральных эндометритов у коров

Год	<i>S.aureus</i>		<i>E.coli</i>				<i>S.enteritidis</i>				<i>P.vulgaris</i>			
	<i>MecA</i> (n=56)	%	<i>blaGES</i> (n=25)	%	<i>blaDHA</i> (n=22)	%	<i>blaGES</i> (n=18)	%	<i>blaDHA</i> (n=20)	%	<i>blaGES</i> (n=19)	%	<i>blaDHA</i> (n=20)	%
2018	5	8,9	3	12,0	2	9,1	2	11,1	2	10,0	3	15,8	2	10,0
2019	7	12,5	4	16,0	3	13,6	2	11,1	3	15,0	3	15,8	3	15,0
2020	9	16,1	4	16,0	3	13,6	3	16,7	3	15,0	4	21,1	3	15,0
2021	12	21,4	4	16,0	6	27,3	4	22,2	4	20,0	4	21,1	4	20,0
2022	23	41,1	10	40,0	8	36,4	7	31,8	8	40,0	5	26,2	8	40,0

В результате проведенных исследований (табл. 9) установлено увеличение частоты выявления генов резистентности *MecA* у *S.aureus* (на 21,9%), *blaGES*, *blaDHA* у *E.coli* (на 25,2 и 22,2%), *blaGES*, *blaDHA* у *S.enteritidis* (на 19,1 и 21,3%), *blaGES*, *blaDHA* у *P.vulgaris* (на 25,0 и 26,3%).

Таблица 9 – Частота выявления основных генов резистентности к антибактериальным препаратам у основных возбудителей гнойно-катаральных эндометритов у коров

Микроорганизм	Ген	Количество исследованных изолятов	% выявления
<i>S.aureus</i> (n=256)	<i>MecA</i>	56	21,9
<i>E.coli</i> (n=99)	<i>blaGES</i>	25	25,2
	<i>blaDHA</i>	22	22,2
<i>S.enteritidis</i> (n=94)	<i>blaGES</i>	18	19,1
	<i>blaDHA</i>	20	21,3
<i>P.vulgaris</i> (n=76)	<i>blaGES</i>	19	25,0
	<i>blaDHA</i>	20	26,3

Типирование полирезистентных изолятов (табл. 10) выделенных бактерий при помощи ПЦР в режиме реального времени показало наличие у большинства из них генов *MecA* (23,8%), *blaGES* (36,7%) и *blaDHA* (37,7%).

Таблица 10 – Частота выявления генов резистентности к антибиотикам у основных возбудителей маститов и эндометритов у коров

Микроорганизм	Ген	Количество исследованных изолятов	% выявления
<i>S.aureus</i> (n=823)	<i>MecA</i>	196	23,8
<i>E.coli</i> (n=323)	<i>blaGES</i>	144	44,6
	<i>blaDHA</i>	146	45,2
<i>S.enteritidis</i> (n=94)	<i>blaGES</i>	18	19,2
	<i>blaDHA</i>	20	21,3
<i>P.vulgaris</i> (n=76)	<i>blaGES</i>	19	25,0
	<i>blaDHA</i>	20	26,3

В результате проведенных исследований (табл. 11) установлено увеличение количества выявления генов резистентности *MecA* у *S.aureus* на 15,3% (с 13,8% в 2018 г. до 29,1% в 2022 г.; $p<0,01$), *blaGES* у *E.coli* – на 19,4% (с 12,5% в 2018 г. до 31,9% в 2022 г.; $p<0,05$), у *S.enteritidis* – на 20,7% (с 11,1% в 2018 г. до 31,8% в 2022 г.; $p<0,01$), у *P.vulgaris* – на 10,4% (с 15,8% в 2018 г. до 26,2% в 2022 г.; $p<0,01$), *blaDHA* у *E.coli* – на 14,9% (с 13,7% в 2018 г. до 28,6% в 2022 г.; $p<0,05$), у *S.enteritidis* – на 30,0% (с 10,0% в 2018 г. до 40,0% в 2022 г.; $p<0,01$), у *P.vulgaris* – на 30,0% (с 10,0% в 2018 г. до 40,0% в 2022 г.; $p<0,01$).

Таблица 11 – Количественные характеристики основных генов резистентности *MecA*, *blaGES*, *blaDHA* у основных возбудителей маститов и эндометритов у коров по годам

Год	<i>S.aureus</i>		<i>E.coli</i>				<i>S.enteritidis</i>				<i>P.vulgaris</i>			
	<i>MecA</i> (n=196)	%	<i>blaGES</i> (n=144)	%	<i>blaDHA</i> (n=146)	%	<i>blaGES</i> (n=18)	%	<i>blaDHA</i> (n=20)	%	<i>blaGES</i> (n=19)	%	<i>blaDHA</i> (n=20)	%
2018	27	13,8	18	12,5	20	13,7	2	11,1	2	10,0	3	15,8	2	10,0
2019	32	16,3	24	16,7	23	15,7	2	11,1	3	15,0	3	15,8	3	15,0
2020	37	18,9	27	18,8	28	19,2	3	16,7	3	15,0	4	21,1	3	15,0
2021	43	21,9	29	20,1	33	22,6	4	22,2	4	20,0	4	21,1	4	20,0
2022	57	29,1	46	31,9	42	28,8	7	31,8	8	40,0	5	26,2	8	40,0

Таким образом, проведенный мониторинг показал увеличение количества частоты распространения генов резистентности, что косвенно свидетельствует об увеличении количества устойчивой к антибиотикам микрофлоры, выделенной при маститах и эндометритах коров.

Изучение антибактериальной активности наночастиц серебра в сравнении с другими дезинфицирующими и антимикробными средствами в отношении референтных штаммов микробов и изолятов, выделенных от коров, являющихся этиологическими агентами маститов и эндометритов

В работе использовали наночастицы серебра (AgNPs) препарата Арговит, полученные электронно-лучевой обработкой водного раствора водорастворимого полимер-стабилизатора и водорастворимой соли серебра, которая заключалась в пропускании пучка ускоренных электронов при помощи установки линейного ускорителя типа ИЛУ-10, через раствор с рабочей дозой 5-30 кГр. Все образцы препарата содержали частицы серебра нанометрового диапазона 5-60 нм и визуализировались как контрастные частицы сферической, треугольной, многогранной формы с характерным для наночастиц серебра видом – чётким контуром, высокой электронной плотностью и характерной дифракционной картиной с кольцами и рефlekсами для большого количества наночастиц (рис.2).

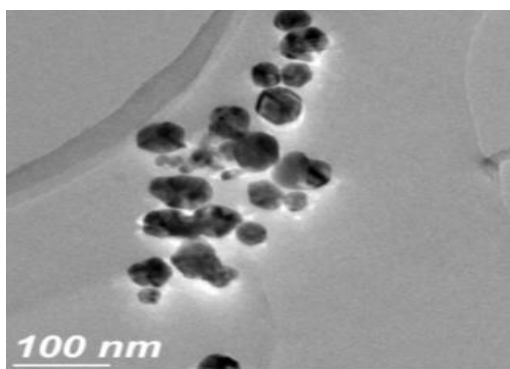


Рисунок 2 – Наночастицы серебра препарата Арговит

В нашей работе был проведен поиск оптимального компонента для сочетанного применения наночастиц серебра с другими препаратами с целью повышения бактерицидных свойств препаратов. Использовали: хитозан – полисахарид, полученный из панцирей ракообразных (ООО «Алина Фарма», Россия), кверцетин («Shaanxi», China), арабиногалактозу (ООО «Левел», Россия), (ООО «Абик Септа», Россия), молочную кислоту (ООО «Сухой крахмал и молочная кислота», Россия), диметилсульфоксид (ДМСО) – лекарственный препарат, обладающий противовоспалительным, противомикробным, фибринолитическим действием (АО «Татхимфарм препараты», Россия). Результаты исследований показали, что ДМСО проявил наибольшую активность в отношении многих бактерий. Исходя из этого, был разработан комплексный препарат Арговит-Д, включающий наночастицы серебра и ДМСО.

Препарат показал высокую бактерицидную активность в отношении *S.aureus* ATCC 25953, *S.epidermidis* ATCC 14990, *S.dysgalactiae* ATCC 27957, *S.agalactiae* ATCC 12386, *S.pyogenes* ATCC 19615, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922 *in vitro* в концентрации 0,001-0,002 мкг/мл, что в 18-156 раз меньше, относительно показателей препарата Арговит в моноварианте. Определение оптимального процента сочетания AgNPs (5,10,15%) и ДМСО (5,0%) компонентов лекарственной композиции Арговит-Д было установлено в соотношении Арговит 10% + ДМСО 5%. Разработанная лекарственная композиция получила название Арговит-Д (табл. 12).

Таблица 12 – Бактерицидная активность лекарственной композиции Арговит-Д

Микроорганизм	Арговит 10 % + ДМСО 5 %, мкг/мл
<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615	0,002
<i>S.dysgalactiae</i> ATCC 27957	0,002
<i>S.agalactiae</i> ATCC 12386	0,002
<i>S.aureus</i> ATCC 25953	0,001
<i>S.epidermidis</i> ATCC 14990	0,002
<i>E.coli</i> ATCC 25922	0,002
<i>S.enteritidis</i> ATCC 13076	0,004
<i>P.vulgaris</i> ATCC 6380	0,004
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	0,002

Адгезивная и антилизоцимная активность референтных штаммов микроорганизмов при культивировании с наночастицами серебра и антибактериальными препаратами *in vitro*

После контакта препарата Арговит и лекарственной композиции Арговит-Д с референтными штаммами микроорганизмов отмечено угнетение АА у *S.aureus* ATCC 25953, *S.epidermidis* ATCC 14990, *S.dysgalactiae* ATCC 27957, *S.agalactiae* ATCC 12386, *S.pyogenes* ATCC 19615, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922 (рис. 3).

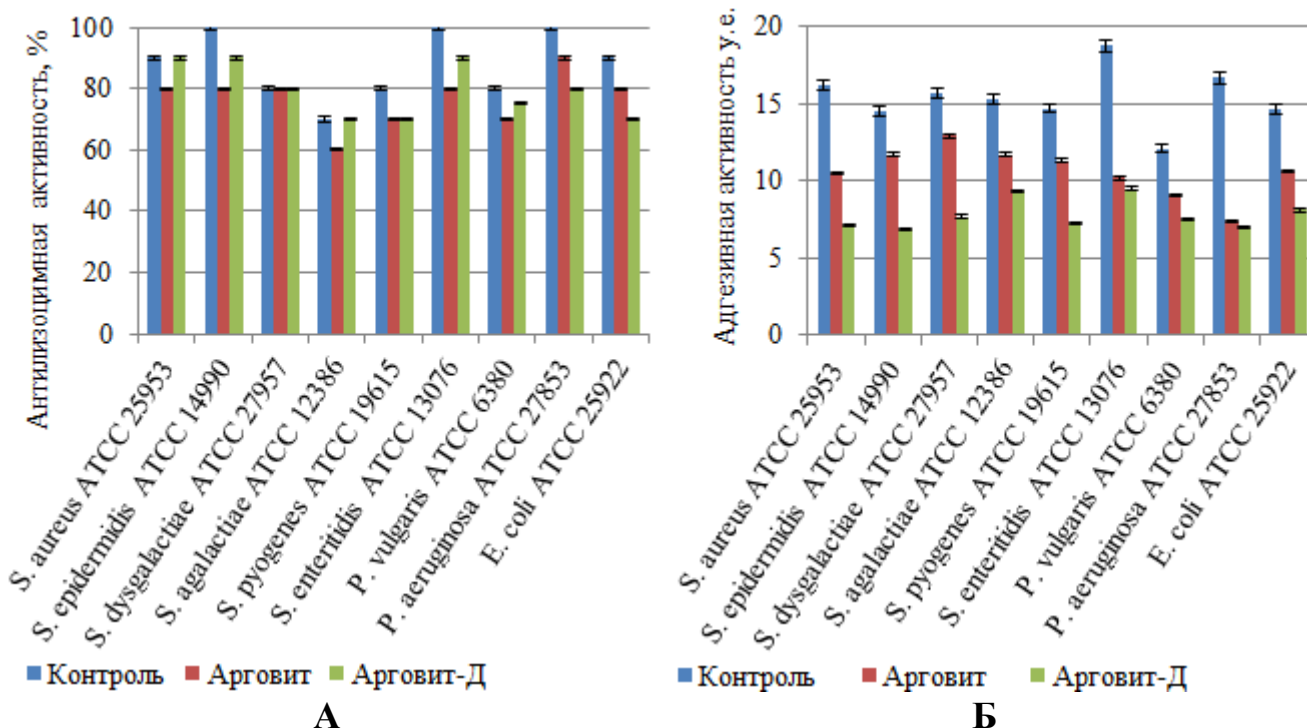


Рисунок 3 – Изменение АЛА (А) и АА (Б) микроорганизмов при контакте с препаратом Арговит и лекарственной композицией Арговит-Д *in vitro*

Установлено, что лекарственная композиция Арговит-Д оказывает выраженное угнетающее действие на АА, проявляющееся в уменьшение показателя от 39,3 до 56,2%, в то время как при культивировании с препаратом Арговит снижение составило от 18 до 35,2%.

Сравнительную оценку влияния препарата Арговит и лекарственной композиции Арговит-Д на изменение АА референтных штаммов микроорганизмов проводили в сопоставлении с аналогичными результатами, полученными после контакта с энрофлоксацином, цефтиофуrom, окситетрациклином, неомицином, гентамицином.

Установили, что наиболее выраженный рост АА у всех изучаемых микроорганизмов отмечен при совместном культивировании с гентамицином от 10,5 до 75,9%, с окситетрациклином от 25,2 до 45,6%, с энрофлоксацином от 24,4 до 65,9%, с неомицином от 20,1 до 64,3%, с цефтиофуrom от 18,4 до 53,6% (рис. 4).

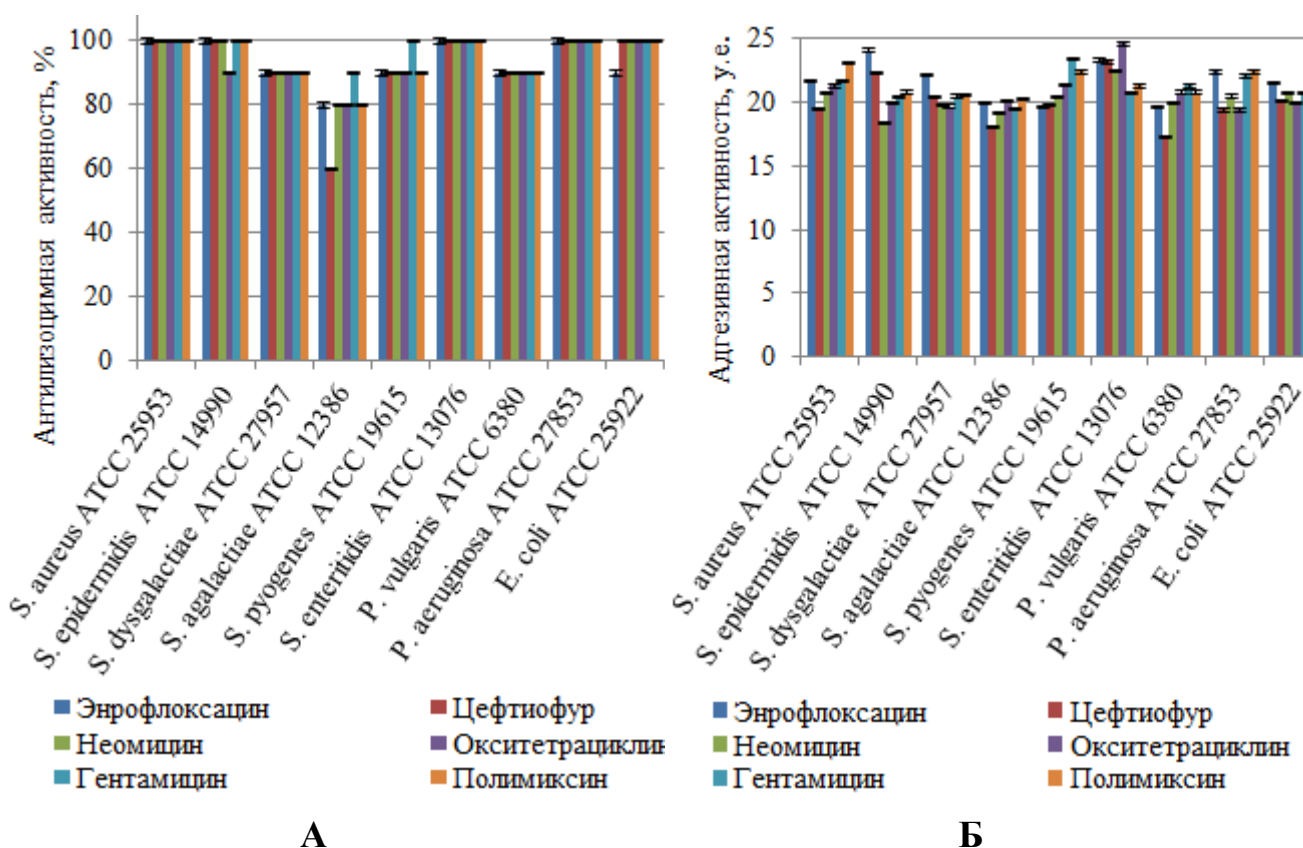


Рисунок 4 – Динамика АЛА (А) и АА (Б) штаммов микроорганизмов при культивировании с антибактериальными препаратами

Согласно исследованиям О.В. Бухарина (2006), увеличение показателя АА резистентных штаммов указывает на рост способности микроорганизмов к адгезии, что трансформирует их обширный диапазон биологических реакций внутри клетки, тем самым способствуя росту патогенности. Проанализировав модификацию АЛА, можно заметить разнообразное влияние наночастиц серебра на изучаемые микроорганизмы.

При совместном культивировании препарата Арговит и *S.epidermidis* ATCC 14990, *S.epidermidis* ATCC 14990, *S.agalactiae* ATCC 12386, *S.pyogenes* ATCC 19615, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922 отмечено угнетение АЛА от 10 до 20,0%, в то время как АЛА *S.epidermidis* ATCC 14990 осталась без изменения. В результате исследований установлено, что после совместного инкубирования лекарственной композиции Арговит-Д с референтными штаммами бактерий отмечено снижение АЛА у *S.epidermidis* ATCC 14990 и у *S.pyogenes* ATCC 19615 – на 12,5%, у *P.aeruginosa* ATCC 27853 – на 20,0%, у *E.coli* ATCC 25922 – на 22,2%.

Мониторинг проведенных исследований АЛА после сочетанного инкубирования антибактериальных препаратов и референтных штаммов бактерий показал разнонаправленное влияние на изменение этого свойства. В частности, энрофлоксацин, неомицин повышали показатели АЛА у *S.aureus* ATCC 25953 – на 11,1%, у *S.dysgalactiae* ATCC 27957, у *S.pyogenes* ATCC 19615, у *S.agalactiae* ATCC 12386 – на 14,3%; цефтиофур снижал рост АЛА у *S.agalactiae* ATCC

12386 – на 14,3%, одновременно увеличивая его у *S.aureus* ATCC 25953 – на 11,1%, у *E.coli* ATCC 25922 – на 10,0%; инкубирование с гентамицином увеличивало показатель АЛА у *S.aureus* ATCC 25953, у *E.coli* ATCC 25922 – на 11,1%, у *S.pyogenes* ATCC 19615 – на 25,0%.

В результате проведенных исследований установлено, что показатель АЛА увеличивается у большинства исследуемых референтных штаммов бактерий после сочетанного культивирования с антибактериальными препаратами, что свидетельствует об увеличивающей способности микроорганизмов разрушать важнейший защитный лизоцимный барьер в крови, а также, о росте патогенной агрессии, влияющей на течение инфекционного процесса и эффективность лечебных мероприятий.

Разработка рациональных схем лечения послеродового гнойно-катарального эндометрита коров с помощью лекарственных средств на основе серебра и определение их терапевтической и экономической эффективности

Для определения наиболее оптимальной терапевтической дозы препарата Арговит по принципу аналогов были сформированы три группы коров черно-пестрой, больных гнойно-катаральным эндометритом. Использование препарата в виде 20%-ного водного раствора в дозе 100 мл 1 раз в 48 часов показало наибольший терапевтический эффект при терапии послеродового гнойно-катарального эндометрита у коров, при этом выздоровление происходило на $7,8 \pm 0,1$ сутки (табл. 13).

Таблица 13 – Влияние препаратов различных фармакологических групп на репродуктивную функцию коров

Показатель	Группа			
	Метробиотик		Арговит	
	голов	%	голов	%
Количество	50	100	50	100
Выздоровело	48	96	50	100
Оплодотворилось	44	88	50	100
Продолжительность сервис периода, дн	92,6 $\pm$ 3,6		60,6 $\pm$ 2,3	
Оплодотворилось коров после первого осеменения	20	40	25	50
Индекс осеменения	2,3 $\pm$ 0,2		1,8 $\pm$ 0,1	

Применение препарата в виде 20%-ного водного раствора в дозе 150 мл на 1 животное характеризовалось сходными показателями сроков выздоровления, что и применение препарата в дозе 100 мл. Однако применение препарата в дозе 150 мл не выявило значительного повышения терапевтического эффекта и приводило к перерасходу действующих веществ, входящих в состав препарата. При терапии послеродового гнойно-катарального эндометрита коров первой опытной группы Арговитом средний срок лечения животных составил $7,8 \pm 0,1$ суток, что в 1,8 раза меньше по сравнению с показателями контрольной группы.

Для определения наиболее оптимальной терапевтической дозы лекарственной композиции Арговит-Д по принципу аналогов были сформированы три группы коров черно-пестрой породы с признаками послеродового гнойно-катарального эндометрита. Животным вводили Арговит в виде 5, 10 и 15% и ДМСО в виде 5%-ных водных растворов внутриматочно в дозах от 50 до 150 мл 1 раз в 48 часов. Использование лекарственной композиции с концентрацией действующих веществ (10%-ный водный раствор Арговита + 5%-ный водный раствор ДМСО) внутриматочно в дозе 150 мл 1 раз в 48 часов, показало наибольший терапевтический эффект при терапии послеродового гнойно-катарального эндометрита коров, при котором выздоровление происходило на $6,9 \pm 0,2$ сутки. Применение лекарственной композиции с концентрацией действующего вещества (15%-ный водный раствор Арговита + 5%-ный водный раствор ДМСО) внутриматочно в дозах от 50 до 150 мл 1 раз в 48 часов, характеризовалось сходными показателями сроков выздоровления, что и применение препарата (10%-ный водный раствор Арговита + 5%-ный водный раствор ДМСО) в дозе 150 мл (табл. 14).

Таблица 14 – Влияние препаратов различных фармакологических групп на репродуктивную функцию коров

Показатель	Группа			
	Тетраметр		Арговит-Д	
	голов	%	голов	%
Количество коров	50	100	50	100
Выздоровело коров	48	96	50	100
Оплодотворилось коров	44	88	50	100
Продолжительность сервис периода, сут.	$92,6 \pm 3,6$		$61,6 \pm 2,3$	
Оплодотворилось коров после первого осеменения	20	40	25	50
Индекс осеменения	$2,3 \pm 0,9$		$1,8 \pm 0,7$	
Срок лечения, сут.	$14,1 \pm 0,6$		$6,9 \pm 0,3$	

Результаты исследований показали, что наиболее эффективной дозой лекарственной композиции, оказывающей выраженное терапевтическое действие и более короткий срок лечения ($6,9 \pm 0,2$ сут.) является доза 150 мл. Для лечения послеродового гнойно-катарального эндометрита у коров в первой опытной группе использовали лекарственную композицию, состоящую из 10%-ного водного раствора Арговита и 5%-ного водного раствора ДМСО, которую вводили внутриматочно в дозе 150 мл 1 раз в 48 часов. Утеротон вводили внутримышечно 10 мл 1 раз в 48 часов. Коровы контрольной группы получали препарат Тетраметр внутриматочно 100 мл 1 раз в 48 часов и Утеротон внутримышечно в дозе 10 мл однократно, 1 раз в 48 часов. У коров в опытной группе средний срок лечения животных составил $6,9 \pm 0,3$ суток, что в 2 раза короче по сравнению с показателями контрольной группы.

Экономическая эффективность при лечении гнойно-катарального эндометрита коров лекарственной композицией Арговит-Д и препаратом Арговит на 1 рубль затрат составила 12,1 и 15,4 рублей соответственно, что в 9,4-75,6 раз больше по сравнению с препаратом Метробиотик и Тетраметр.

Влияние наночастиц серебра на экологические характеристики микрофлоры при лечении послеродового гнойно-катарального эндометрита коров

Применение препарата Арговит при терапии гнойно-катарального эндометрита у коров вызывало снижение АЛА у *S.aureus*, у *S.enteritidis*, у *S.pyogenes*, у *E.coli*, у *P.vulgaris* от 32,1 до 20,9%. В результате исследований установлено, что при лечении гнойно-катарального эндометрита у коров препаратом Метробиотик отмечено снижение АЛА у *S.aureus*, у *E.coli* от 9,1 до 1,26%, в то время как у *P.vulgaris*, у *S.pyogenes* и у *S.enteritidis* выявлен незначительный рост АЛА от 1,69 до 3,36% (рис. 5).

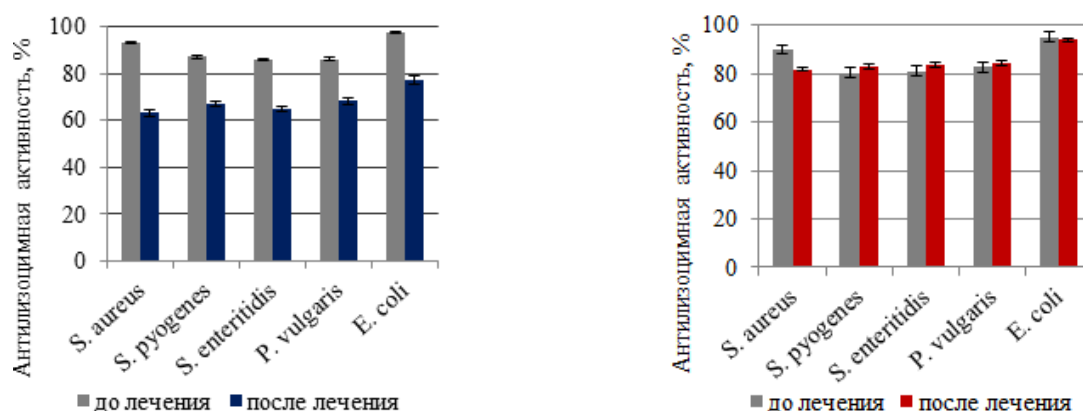


Рисунок 5 – Антилизотимная активность микроорганизмов выделенных при терапии гнойно-катарального эндометрита у коров препаратами Арговит (А), Метробиотик (Б)

Применение лекарственной композиции Арговит-Д при терапии гнойно-катарального эндометрита у коров приводило к снижению АЛА у *S.pyogenes*, у *S.aureus*, у *P.vulgaris*, у *E.coli*, у *S.enteritidis* от 55,1 до 39,0%. После применения препарата тетраметр установлен рост АЛА у *S.aureus*, у *S.enteritidis*, у *E.coli*, у *S.pyogenes* от 10,3 до 11,8% (рис. 6).

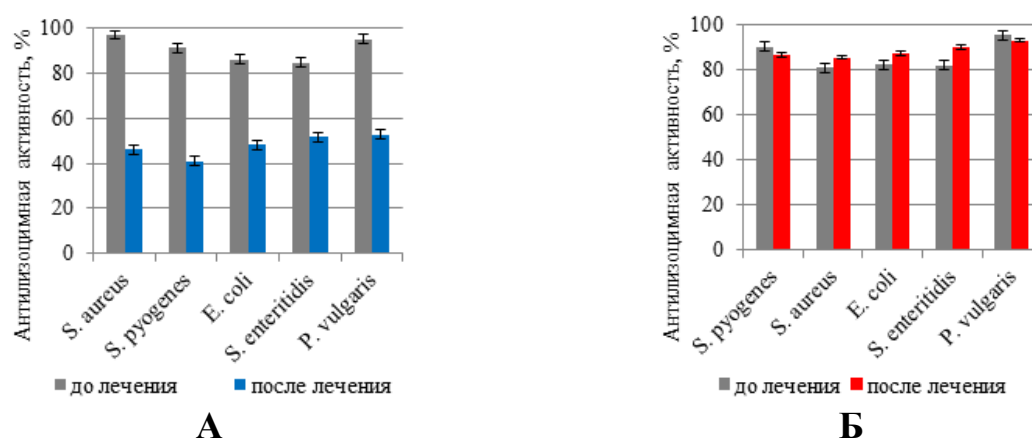


Рисунок 6 – Антилизотимная активность микроорганизмов выделенных при терапии гнойно-катарального эндометрита у коров лекарственной композицией Арговит-Д (А), препаратом Тетраметр (Б)

В результате исследований установлено снижение АА после терапии гнойно-катарального эндометрита у коров препаратом Арговит у *P.vulgaris*, у *E.coli* на 29,0%, у *S.aureus*, у *S.enteritidis*, у *S.pyogenes* от 30,8 до 28,0%. После лечения гнойно-катарального эндометрита у коров препаратом Метробиотик отмечено снижение АА у *S.aureus*, у *E.coli* от 3,27 до 3,05%, с одновременным ростом у *P.vulgaris*, у *S.pyogenes*, у *S.enteritidis* от 2,96 до 8,53% (рис. 7).

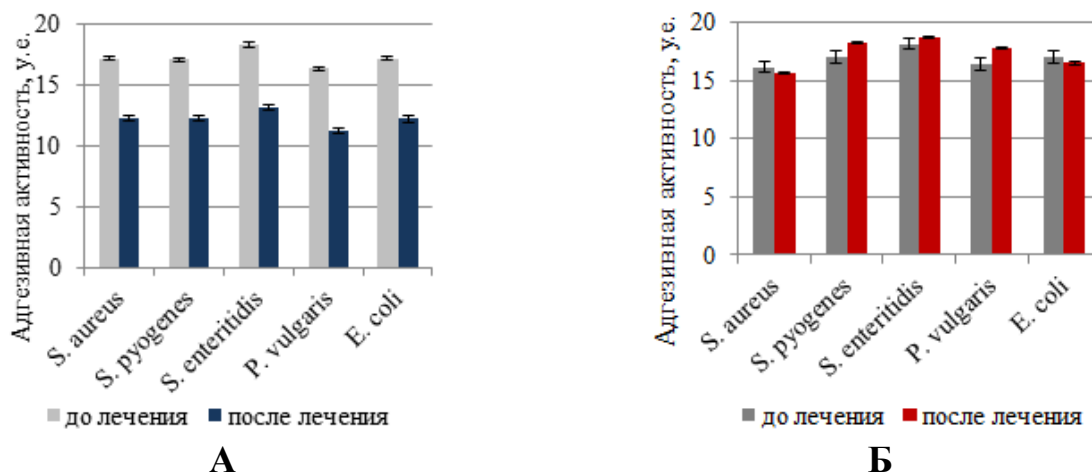


Рисунок 7 – Адгезивная активность микроорганизмов выделенных при терапии гнойно-катарального эндометрита у коров препаратом Арговит (А), Метробиотик (Б)

После лечения гнойно-катарального эндометрита у коров лекарственной композицией Арговит-Д отмечено снижение АА у *S.aureus*, у *S.pyogenes*, у *S.enteritidis*, у *E.coli*, у *P.vulgaris* от 72,6 до 46,2%. После терапии гнойно-катарального эндометрита у коров препаратом Тетраметр установлен рост АА у *P.vulgaris*, у *S.pyogenes*, у *S.enteritidis*, у *S.aureus*, у *E.coli* от 10,1 до 11,2% (рис. 8).

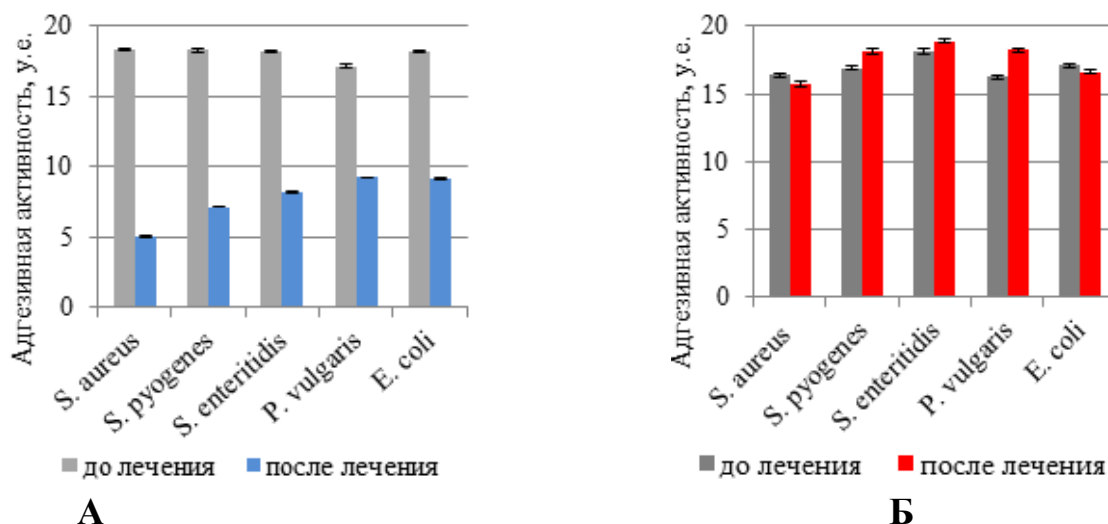


Рисунок 8 – Адгезивная активность микроорганизмов выделенных при терапии гнойно-катарального эндометрита у коров лекарственной композицией Арговит-Д (А), препаратом Тетраметр (Б)

Таким образом, применение препарата Арговит и лекарственной композиции Арговит-Д при терапии гнойно-катарального эндометрита у коров приводило к снижению АЛА у *S.aureus*, у *P.vulgaris*, у *E.coli*, у *S.pyogenes*, у *S.enteritidis* от 51,9 до 39,0% и от 32,1 до 20,9%. Использование препаратов Тетраметр и Метробиотик при лечении гнойно-катарального эндометрита у коров приводило к росту АЛА у *S.aureus*, у *S.enteritidis*, у *E.coli*, у *S.pyogenes*, у *P.vulgaris* от 3,36 до 11,8%.

Влияние генетических маркеров резистентности микроорганизмов, изолированных у коров больных гнойно-катаральным эндометритом при лечении лекарственными средствами на основе серебра

После лечения гнойно-катарального эндометрита коров препаратом Арговит ген резистентности МесА выявлялся в 5,7% проб *S.aureus*. Гены резистентности blaGES и blaDHA были выявлены у *E.coli* в 8,3 и 4,2% проб, у *S.enteritidis* – в 8,7 и 4,3 %, у *P.vulgaris* – в 17,6 и 11,8%, соответственно. После терапии гнойно-катарального эндометрита у коров препаратом Метробиотик чаще других выявлялся ген резистентности МесА у *S.aureus* (40,0%). Гены резистентности blaGES и blaDHA были выявлены у *E.coli* в 13,0 и 10,7% проб, у *S.enteritidis* – в 30,4 и 43,5%, у *P.vulgaris* – в 41,2 и 58,8%, соответственно.

Лекарственная композиция Арговит-Д при лечении послеродового гнойно-катарального эндометрита у коров снижала количество изолятов *S.aureus*, *E.coli*, *S.enteritidis*, *P.vulgaris*, содержащих ген резистентности МесА, blaGES, blaDHA от 2,5 до 6 раз.

Разработка рациональных схем лечения мастита коров с помощью лекарственных средств на основе серебра и определение их терапевтической и экономической эффективности

Для определения оптимальной терапевтической дозы Арговита по принципу аналогов были сформированы группы коров черно-пестрой породы, больных субклиническим, серозным и катаральным маститом. Животным вводили интрацистернально препарат Арговит в дозе от 2 до 15 мл на одно животное один раз в сутки с концентрацией действующих веществ от 5 до 15%. Применение Арговита в 2 и 5%-ных концентрациях действующих веществ в дозах от 2 до 15 мл показало у коров наименьший терапевтический эффект при лечении субклинического, серозного и катарального мастита. Так, при терапии субклинического мастита у коров 2%-ным раствором Арговита выздоровление наступало на $5,2 \pm 0,1$ - $5,6 \pm 0,1$, серозного – на $5,6 \pm 0,2$ - $6,2 \pm 0,1$, катарального – на $5,9 \pm 0,1$ - $7,8 \pm 0,1$ сутки соответственно. Применение Арговита с 5%-ной концентрацией действующего вещества в дозах 2-15 мл на одно животное характеризуется сходными показателями сроков выздоровления, что и его применение в 2%-ной концентрации.

Использование Арговита с 10%-ной концентрацией действующих веществ в дозе 10 мл на одно животное показало наибольший терапевтический эффект при субклиническом, серозном, катаральном маститах коров при наименьшем сроке лечения $3,2 \pm 0,4$; $4,1 \pm 0,2$; $4,9 \pm 0,1$ суток соответственно. Однако его применение с 15%-ной концентрацией действующих веществ в дозах от 2 до 15 мл на одно животное не выявило значительного повышения терапевтической эффективности и приводило к перерасходу действующих веществ, входящих в состав Арговита.

Для определения наиболее оптимальной терапевтической дозы лекарственной композиции Арговит-Д по принципу аналогов были сформированы три группы коров черно-пестрой породы, больных маститом. Животным вводили лекарственную композицию, содержащую Арговит в виде 5%, 10 и 15%-ных водных растворов и ДМСО в виде 5%-ного водного раствора интрацистернально в дозах 5, 10, 15 мл 1 раз в сутки.

Использование лекарственной композиции с концентрацией действующих веществ (10%-ный водный раствор Арговита + 5%-ный водный раствор ДМСО) интрацистернально в дозе 10 мл 1 раз в сутки, показало наилучший терапевтический эффект при лечении субклинического, серозного, катарального мастита коров, при котором выздоровление происходило на $3,9 \pm 0,1$ сутки. Применение лекарственной композиции в третьей группе с концентрацией действующего вещества (15%-ный водный раствор Арговита + 5%-ный водный раствор ДМСО) интрацистернально в дозах от 5 до 15 мл 1 раз в сутки, характеризуется сходными показателями сроков выздоровления, что и применение препарата (10%-ный водный раствор Арговита + 5%-ный водный раствор ДМСО) в дозе 10 мл. Таким образом, использование лекарственной композиции с концентрацией действующих веществ (10%-ный водный раствор Арговита + 5%-ный водный раствор ДМСО) интрацистернально в дозе 10 мл 1 раз в сутки показало наилучший терапевтический эффект при лечении субклинического, серозного и катарального маститов у коров.

Отмечен высокий терапевтический эффект применения препарата Арговит при лечении субклинического, серозного и катарального маститов коров, при этом средний срок лечения был в 1,3-1,4 раза короче по сравнению с препаратом Лактобай. При использовании препарата Арговит-Д срок заболевания коров был в 1,6-1,7 раза короче в сравнении с антибактериальным препаратом Спектромаст (табл. 15).

Таблица 15 – Сроки лечения субклинического, серозного и катарального мастита у коров, сут.

Препарат	Форма мастита		
	субклиническая	серозная	катаральная
Спектромаст	$3,6 \pm 0,2$	$4,6 \pm 0,3$	$6,2 \pm 0,1$
Арговит - Д	$2,1 \pm 0,1$	$2,9 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,2$
Лактобай	$4,1 \pm 0,2$	$5,6 \pm 0,3$	$6,7 \pm 0,2$
Арговит	$3,2 \pm 0,1$	$4,1 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,1$

Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат при терапии мастита коров лекарственной композицией Арговит-Д и Арговит составила 10,2-65,8 и 4,8-41,8 рублей, соответственно, в то время как при терапии этих же маститов у коров препаратами Спектромаст и Лактобай она составила от -1,9 до 0,8 и от -0,96 до 6,8 рублей, соответственно.

Влияние наночастиц серебра при лечении мастита коров на экологически характеристики микрофлоры

При лечении мастита у коров препаратом Арговит установлено снижение АЛА у *S.aureus*, у *S.pyogenes*, у *S.agalactiae*, у *S.dysgalactiae*, у *E.coli*, у *S.epidermidis* от 30,3 до 17,8%. Использование Лактобая при терапии мастита у коров вызывало снижение АЛА у *E.coli*, у *S.pyogenes*, у *S.epidermidis* от 7,31 до 3,28%, с одновременным ростом АЛА у *S.aureus*, у *S.agalactiae*, у *S.dysgalactiae* от 1,35 до 4,35% (рис. 9).

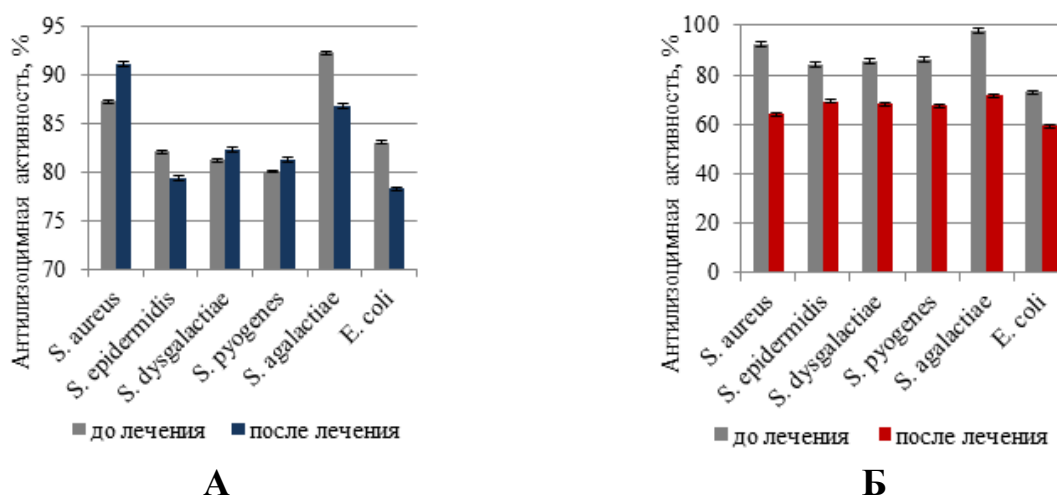
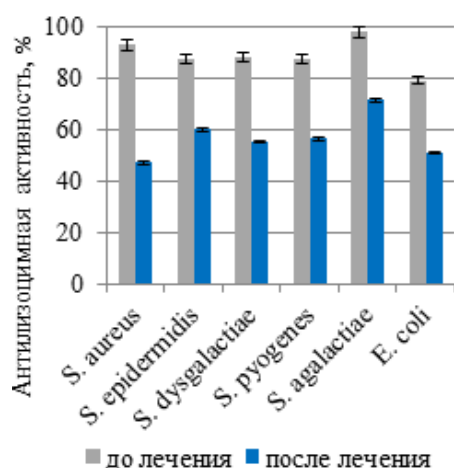


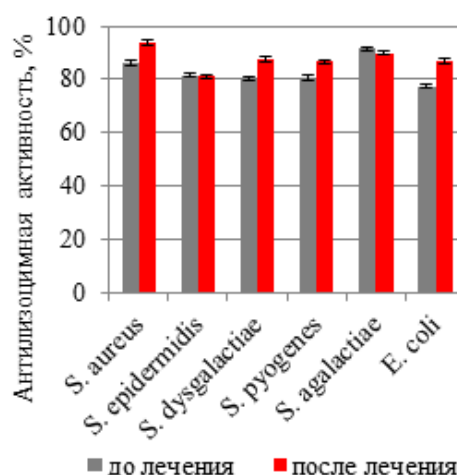
Рисунок 9 – Антилизотимная активность микроорганизмов выделенных при терапии мастита у коров препаратами Арговит (А), Лактобай (Б)

Применение лекарственной композиции Арговит-Д при лечении мастита у коров вызывало снижение АЛА у *E.coli*, *S.aureus*, *S.dysgalactiae* и *S.agalactiae* от 26,9 до 49,3%. В то время как при терапии мастита у коров препаратом Спектромаст отмечен рост АЛА у *E.coli*, *S.aureus* и *S.dysgalactiae* от 7,0 до 10,9% (рис. 10).

В результате исследований установлено, что после лечения мастита у коров препаратом Лактобай отмечено АА микроорганизмов от 6,59 до 2,7%, с одновременным ростом от 1,98 до 18,26%. В то время как, после терапии мастита у коров препаратом Арговит отмечено снижение АА микроорганизмов от 29,8 до 13,0% (рис. 11).

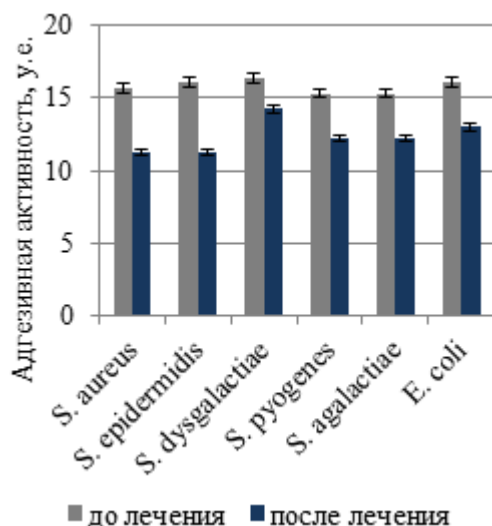


А

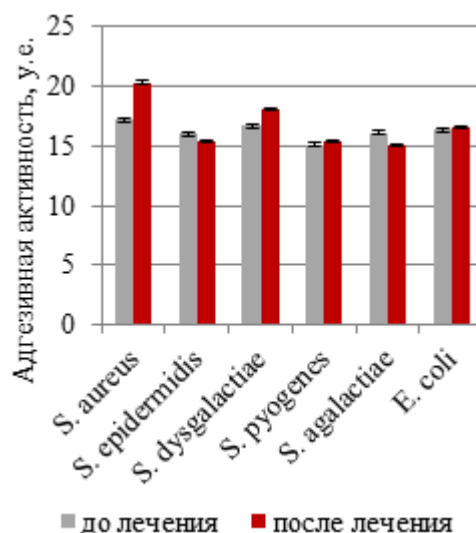


Б

Рисунок 10 – Антилизотимная активность микроорганизмов выделенных при терапии мастита у коров лекарственной композицией Арговит-Д (А), препаратом Спектрмаст (Б)



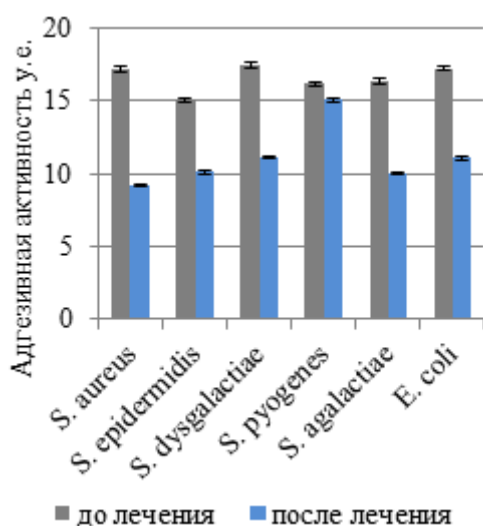
А



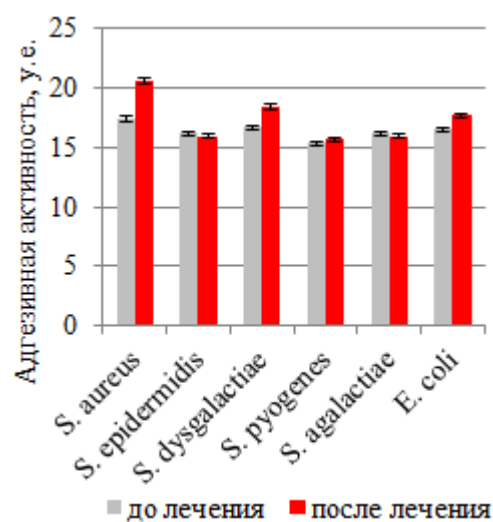
Б

Рисунок 11 – Адгезивная активность микроорганизмов выделенных при терапии мастита у коров препаратами Арговит (А), Лактобай (Б)

Использование лекарственной композиции Арговит-Д при терапии мастита у коров привело к снижению АА у *S.aureus*, у *S.agalactiae*, у *S.dysgalactiae*, у *E.coli*, у *S.epidermidis* и у *S.pyogenes* от 46,5 до 7,2%. При лечении мастита у коров Спектрмастом, наоборот, установлен рост АА у *S.aureus*, у *S.dysgalactiae*, у *E.coli* и у *S.agalactiae* от 15,5 до 2,6%, также отмечено незначительное снижение АА у *S.epidermidis* и у *S.pyogenes* на 1,88% (рис. 12).



А



Б

Рисунок 12 – Адгезивная активность микроорганизмов выделенных при терапии мастита у коров лекарственной композицией Арговит-Д (А), препаратом Спектромаст (Б)

Применение лекарственной композиции Арговит-Д и Арговита при терапии мастита у коров вызывало снижение АЛА у выделенных изолятов *S.aureus*, *S.dysgalactiae*, *S.agalactiae*, *E.coli* и *S.epidermidis* от 49,3 до 31,1% и от 30,3 до 17,8%, в то время как после лечения препаратом Спектромаст и Лактобай отмечен рост АЛА у *E.coli*, *S.aureus*, *S.dysgalactiae*, *S.agalactiae* от 4,35 до 10,9%.

Влияние генетических маркеров резистентности микроорганизмов, изолированных у коров больных маститом при лечении лекарственными средствами на основе серебра

После терапии мастита у коров препаратом Лактобай чаще других выявлялся ген резистентности *MecA* к антибактериальным препаратам у *S.aureus* (29,2%). Гены резистентности *blaGES* и *blaDHA* были выявлены у *E.coli* в 9,6% проб, соответственно. После лечения мастита у коров препаратом Арговит ген резистентности *MecA* выявлялся у *S.aureus* в 21,5% проб. Гены резистентности *blaGES* и *blaDHA* были выявлены у *E.coli* в 6,4 и 4,2% проб, соответственно. Применение лекарственной композиции Арговит-Д при лечении мастита у коров снижало количество выявления генов резистентности *MecA*, *blaGES*, *blaDHA* у *S.aureus*, *E.coli*, *S.enteritidis* и *P.vulgaris* от 1,56 до 2,1 раза, что на 16,7-40,0% больше, чем при использовании Арговита. Использование антибактериальных препаратов Спектромаст и Лактобай при лечении мастита у коров вызывало рост от 1,1 до 2,37 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе была изучена способность к образованию биопленок, а также количественные показатели АА, АЛА, эффлюкс эффекта у основных этиологических агентов, выделенных от животных в сравнении с референтными штаммами бактерий, определена их фенотипическая резистентность к анти-

бактериальным препаратам. При помощи полимеразной цепной реакции в режиме реального времени выявлены гены резистентности к антибиотикам у фенотипически резистентных бактерий, выделенных от больных животных. Кроме того, экспериментально и практически доказано, что применение антибактериального препарата Арговит и лекарственной композиции Арговит-Д, наиболее корректно воздействует на микробиоценозы, что позволяет усовершенствовать терапевтические мероприятия при маститах и акушерско-гинекологической патологии у коров.

По результатам исследований сделаны следующие **выводы**:

1. Согласно статистическим данным и результатам собственных исследований, заболеваемость маститами коров в хозяйствах за 2018-2022 гг. составляла от 22,3 до 32,6% от общего поголовья крупного рогатого скота, а акушерско-гинекологическими патологиями – от 10,2 до 15,04%. В структуре маститов преобладали субклинические (39,9%), серозные (35,1%), катаральные (25,0%) формы.

2. Этиологическая структура маститов коров в хозяйствах области носила полиэтиологический характер и была представлена бактериями *S.aureus* (35,5%), *S.epidermidis* (16,6%), *E.coli* (15,3%), *S.disgalactiae* (13,8%), *S.agalactiae* (9,9%) и *S.pyogenes* (9,1%). Установлена тенденция повышения частоты выделения патогенных культур *E.coli* на 24,4%. В этиологии послеродовых эндометритов участвовали бактерии *S.aureus* (33,6%), *S.pyogenes* (28,0%), *E.coli* (13,0%), *S.enteritidis* (12,3%), *P.vulgaris* (10,0%), *P.aeruginosa* (3,1%).

3. Общность микрофлоры представлена ассоциациями бактерий *S.aureus* + *S.epidermidis*, одновременно присутствия которых доказано бактериологическими исследованиями при маститах в 57,7% случаев, *S.aureus* + *S.epidermidis* + *E.coli* – в 17,6, *S.aureus* + *S.epidermidis* + *E.coli* + *S.pyogenes* – в 13,3, *S.pyogenes* + *E.coli* в 4,8, *S.epidermidis* + *S.agalactiae* – в 4,0, *S.agalactiae* + *S.disgalactiae* – в 2,6% и ассоциациями *S.pyogenes* + *S.aureus* + *P.vulgaris* + *E.coli*, выявленных при острых катаральных эндометритах в 43,2% случаев, *S.pyogenes* + *E.coli* – в 25,0, *S.enteritidis* + *E.coli* + *P.vulgaris* в 16,4, *S.aureus* + *E.coli* в 7,9, *S.pyogenes* + *S.aureus* в 5,9, *S.pyogenes* + *S.aureus* + *P.aeruginosa* – в 1,6%. При этом способность к образованию биопленок выявлена у 52,7% микроорганизмов, выделенных при маститах и гнойно-катаральных эндометритах у коров.

4. Доля изолятов бактерий, полирезистентных к антибактериальным препаратам, варьировала от 35,3 до 86,7% к 8 видам антибактериальных препаратов. Типирование полирезистентных изолятов, выделенных при маститах и гнойно-катаральных эндометритах у коров при помощи ПЦР в режиме реального времени, показало наличие у большинства из них генов *MecA* у 22,8% *S.aureus*, *bla*GES и *bla*DHA у 15,2 и 13,0% *E.coli* соответственно.

5. Диметилсульфоксид, входящий в состав лекарственной композиции Арговит-Д, усиливал его бактерицидное действие в отношении референтных штаммов *S.aureus* ATCC 25953, *S.epidermidis* ATCC 14990, *S.dysgalactiae* ATCC 27957, *S.agalactiae* ATCC 12386, *S.pyogenes* ATCC 19615, *P.aeruginosa* ATCC 27853, *E.coli* ATCC 25922 *in vitro* в концентрации 0,001-0,002 мкг/мл, что в

18-156 раз меньше, относительно показателей наночастиц серебра препарата Арговит. Применение лекарственной композиции Арговит-Д способствует снижению АЛА у *P.vulgaris* ATCC 6380, у *S.epidermidis* ATCC 14990, у *S.enteritidis* ATCC 13076, у *S.pyogenes* ATCC 19615, у *P.aeruginosa* ATCC 27853, у *E.coli* ATCC 25922 от 6,25 до 22,2% и АА от 39,3 до 56,2%, что в 1,6-2,18 раза больше, чем при использовании наночастиц серебра в препарате Арговит.

6. Применение лекарственной композиции Арговит-Д при лечении мастита у коров снижало количество изолятов *S.aureus*, *E.coli*, *S.enteritidis*, *P.vulgaris*, содержащих ген антибиотикорезистентности *MecA*, *blaGES*, *blaDNA* от 1,56 до 2,1 раза, что на 16,7-40,0% больше чем при использовании Арговита, при этом использование антибактериальных препаратов Спектромаст и Лактобай в контрольных группах вызывало рост их выявления от 1,1 до 2,37 раза.

7. Арговит-Д при лечении послеродового гнойно-катарального эндометрита у коров снижал количество изолятов *S.aureus*, *E.coli*, *S.enteritidis*, *P.vulgaris*, содержащих ген антибиотикорезистентности *MecA*, *blaGES*, *blaDNA* от 2,5 до 6 раз, что на 60,0-300,0% больше чем при использовании Арговита, при этом использование препаратов Метробиотик и Тетраметр в контрольных группах вызывало рост выявления этих генов от 2,8 до 10,0 раз.

8. Использование лекарственной композиции Арговит-Д при лечении послеродового гнойно-катарального эндометрита у коров снижало процесс биопленкообразования у *E.coli*, *S.enteritidis*, *P.vulgaris*, *S.pyogenes*, *S.aureus* на 66,7-86,7%, что в 3,7-6,8 раз выше, чем при применении препарата Арговит. Использование антибактериальных препаратов Метробиотик и Тетраметр, наоборот, приводило к росту биопленкообразования на 66,3-323,8%.

9. Использование Арговит-Д при лечении мастита у коров вызывало снижение АА у изолятов *S.aureus*, *S.agalactiae*, *S.dysgalactiae*, *E.coli*, *S.epidermidis* на 33,0-46,5%. При терапии гнойно-катарального эндометрита коров Арговит-Д отмечено снижение АА у *S.aureus*, *S.pyogenes*, *S.enteritidis*, *E.coli*, *P.vulgaris* на 46,2-72,6%.

10. Срок лечения гнойно-катарального эндометрита у коров лекарственной композицией Арговит-Д при внутриматочном введении 100 мл 1 раз в 48 часов и препаратом Арговит в дозе 100 мл 20,0%-ного водного раствора 1 раз в 48 часов составил $6,9 \pm 0,3$ и $7,8 \pm 0,1$ суток, что в 1,8-2 раза короче по сравнению с антибактериальными препаратами Метробиотик и Тетраметр. При терапии маститов у коров лекарственной композицией Арговит-Д интрацистернально в дозе 10 мл 1 раз в день и 10 мл 10,0%-ного водного раствора препарата Арговит срок лечения составил 2,1-3,9 и 3,2-4,9 суток соответственно, что в 1,2-1,7 раза короче в сравнении с препаратами Спектромаст и Лактобай.

11. Экономическая эффективность ветеринарных мероприятий на 1 рубль затрат при терапии мастита коров лекарственной композицией Арговит-Д и Арговитом составила 10,2-65,8 и 4,8-41,8 рублей соответственно, в то время как эффект применения препаратов Спектромаст и Лактобай составил от -1,9 до 0,8 и от -0,96 до 6,8 рублей соответственно. Экономическая эффективность, лече-

ния гнойно-катарального эндометрита у коров лекарственной композицией Арговит-Д и препаратом Арговит на 1 рубль затрат составила 12,1 и 15,4 рублей соответственно, в то время как экономическая эффективность препаратов Метробиотик и Тетраметр составила 1,64 и 0,16 рублей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

Разработаны «Методические рекомендации по лечению различных форм мастита у коров препаратом, содержащим наночастицы серебра» (утвержденные ученым советом СФНЦА РАН протокол №4 от 14.10.2020) предназначенные для практических ветеринарных работников при терапии маститов у коров, как альтернатива применения антибиотиков, что позволит обеспечить получение качественной и безопасной продукции животноводства.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобразования и науки РФ

1. Шкиль, Н.Н. Влияние наночастиц серебра препарата Арговит на антибиотикорезистентность бактерий при лечении мастита коров / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова**, В.А. Бурмистров // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. – № 142. – С. 57-67.

2. Перфильева, А.И. Актуальные аспекты применения химически синтезированных соединений наночастиц серебра в животноводстве и агрохимии / А.И. Перфильева, И.А. Граскова, О.А. Ножкина, Н.С. Забанова, Б.Г. Сухов, Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова** // Российские нанотехнологии. – 2019. – Т. 14. – №9-10. – С. 85-93.

3. Шкиль, Н.Н. Влияние антибиотиков и наночастиц серебра на изменение чувствительности *E.coli* к антибактериальным препаратам / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова** // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2020. – Т. 50. – № 2. – С. 84-91.

4. Шкиль, Н.Н. Влияние наночастиц серебра и диметилсульфоксида в комбинации с антибиотиками на изменение антибактериальной чувствительности *S.aureus* ATCC 29737 / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова** // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2020. – № 1. – С. 55-57.

5. **Нефедова, Е.В.** Влияние комплексного препарата, содержащего наночастицы серебра и диметилсульфоксида, на показатели крови коров, больных гнойно-катаральным эндометритом с оценкой эффективности лечения / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Российская сельскохозяйственная наука. – 2021. – № 2. – С.73-76.

6. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра и диметилсульфоксида на антибиотикорезистентность микроорганизмов при терапии гнойно-

катарального эндометрита коров / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Ветеринария и кормление. – 2021. – №2. – С.30-33.

7. **Нефедова, Е.В.** Экономическая оценка эффективности терапии мастита коров препаратами различных фармакологических групп // Е.В. Нефедова // Ветеринария и кормление. – 2021. – №4. – С.40-42.

8. Шкиль, Н.Н. Влияние наночастиц серебра на бактерицидную активность и антибиотикочувствительность *Salmonella enteritidis* 182 / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2021. – №3. – С. 82–91.

9. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра на морфологические, биохимические и иммунологические показатели крови коров, больных клинической формой мастита / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Российская сельскохозяйственная наука. – 2021. – № 6. – С. 56-59.

10. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра на антибиотикорезистентность микроорганизмов при лечении послеродового гнойно-катарального эндометрита коров / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2022. – Т.52. – № 3. – С. 55-62.

11. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра и дезинфектантов на бактерицидную активность относительно *S.enteritidis* / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Вестник Алтайского ГАУ. – 2022. – № 12. – С. 90-94.

12. **Нефедова, Е.В.** Экономическая оценка эффективности терапии гнойно-катарального эндометрита коров препаратами различных фармакологических групп / Е.В. Нефедова // Ветеринария и кормление. – 2023. – №2. – С. 64-65.

13. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра и диметилсульфоксида на адгезивную и антилизоцимную активность микроорганизмов при терапии мастита у коров / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Вестник Алтайского ГАУ. – 2023. – №3. – С.55-60.

14. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра и дезинфектантов на бактерицидную активность *E.coli* / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2023. – № 1(45). – С. 12-17.

15. Нефедова, Е.В. Влияние наночастиц серебра и диметилсульфоксида на процесс биопленкообразования микроорганизмов при терапии мастита у коров / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль, В.А. Сеницын, Е.Ю. Смертина // Вестник Алтайского ГАУ. – 2023. – № 4. – С. 47-50.

16.**Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра и препаратов различных фармакологических групп на бактерицидную активность *S.enteritidis* ATCC 13076 / Е.В. Нефедова // Ветеринария и кормление. – 2023. – №3. – С. 64-65.

17. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра и препаратов различных фармакологических групп на бактерицидную активность *Staphylococcus aureus* / Е.В. Нефедова // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2024. – Т. 54. – № 4. – С. 88-93.

18. **Нефедова Е.В.** Влияние наночастиц серебра на процесс биопленкообразования микроорганизмов при терапии эндометрита у коров / Е.В. Нефедова // Ветеринария и кормление. – 2024. – № 4. – С. 78-80.

Публикации в изданиях, входящих в базу цитирования Scopus и Web of Science

19. Perfilova, A.I. The current aspects of using chemically synthesized compounds of silver nanoparticles in animal husbandry and agrochemistry / A.I. Perfilova, I.A. Graskova, O.A. Nozhkina, N.S. Zabanova, B.G. Sukhov, N.N. Shkil, **E.V. Nefyodova** // Nanotechnologies in Russia. – 2019. – Т. 14. – N. 9-10. – P. 489-496.

20. Shkil, N.N. 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 // International journal of agriculture and biological science. – 2020. – Vol. 46. – P. 119-126.

21. **Nefedova, E.** AgNPs targeting the drug resistance problem of staphylococcus aureus: susceptibility to antibiotics and efflux effect / **E. Nefedova**, N. Shkil, R.L. Vazquez-Gomez // Pharmaceutics. – 2022. – Vol. 14. – P. 763.

22. Garibo Ruiz, D. Silver Nanoparticles targeting the drug resistance problem of *Streptococcus dysgalactiae*: susceptibility to antibiotics and efflux effect / D. Garibo Ruiz, **E. Nefedova**, N.N. Shkil // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23. – P. 6024.

23. **Nefedova, E.** Solution of the drug resistance problem of *Escherichia coli*-with silver nanoparticles: efflux effect and susceptibility to 31 antibiotics / **E. Nefedova**, N.N. Shkil, N.A. Shkil, D. Garibo, R.L. Vazquez-Gomez, A. Pestryakov, N. Bogdanchikova // Nanomaterials. – 2023. – Vol. 13. – P. 1088.

24. Bogdanchikova, N. Revealing the second and the third causes of AGNPs property to restore the bacterial susceptibility to antibiotics / N. Bogdanchikova, M. Maklakova, L.J. Villarreal-Gómez, **E. Nefedova**, N.N. Shkil, E. Plotnikov, A. Pestryakov // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24. – P. 7854.

25. Bogdanchikova, N. Nanoparticles Partially restore bacterial susceptibility to antibiotics / N. Bogdanchikova, R.L. Vazquez-Gomez, **E. Nefedova** // Materials. – 2024. – Vol. 17(7). – P. 1629.

26. Maklakova, M. Role of biofilm formation in the drop of bacterial resistance to antibiotics after animal therapy with silver nanoparticles / M. Maklakova, L.J. Villarreal-Gómez, **E. Nefedova** // ACS Applied Nano Materials. – 2024. – Vol. 7(14). – P. 16553-16563.

Монографии

27. Фундаментальные исследования наночастиц серебра в биологии и опытах применения в медицине, промышленности и сельском хозяйстве: монография / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова** // СФНЦА РАН. – Новосибирск, 2022. – 277 с.

28. Антибиотикорезистентность и пути её преодоления: монография / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова** // СФНЦА РАН. – Новосибирск, 2023. – 216 с.

Патенты РФ

29. Пат. 2598338 Российская Федерация МПК А61К33/38, А61К31/79. Способ лечения серозного мастита крупного рогатого скота / Е.В. Филатова, Н.Н. Шкиль; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2015132240/15; заявл. 03.08.2015; опубл. 20.09.2016, Бюл. №26.

30. Пат. 2706124 Российская Федерация МПК А61К33/38, А61Р15/00. Способ лечения субклинического мастита коров / Н.Н. Шкиль, Н.А. Шкиль, Е.В. Нефедова; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2018120408; заявл. 01.06.2018; опубл. 14.11.2019, Бюл. №32.

31. Пат. 2721909 Российская Федерация МПК А61К31/00, А61К31/65. Способ повышения бактерицидной активности окситетрациклина / Н.Н. Шкиль, Н.А. Шкиль, **Е.В. Нефедова**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2019124045; заявл. 23.07.2019; опубл. 25.05.2020; Бюл. №15.

32. Пат. 2735257 Российская Федерация МПК А61К33/38, А61К47/20. Способ терапии послеродового эндометрита крупного рогатого скота / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль, Н.А. Шкиль; заявитель и патентообладатель Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2020104644; заявл. 31.01.2020; опубл. 29.10.2020; Бюл. №31.

33. Пат. 2745582 Российская Федерация МПК А61К33/38, А61Р31/04. Способ терапии послеродового гнойно-катарального эндометрита коров / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2020124243; заявл. 14.07.2020; опубл. 29.03.2021; Бюл. №10.

34. Пат. 2757329 Российская Федерация МПК А61К33/38, А61К47/20. Способ терапии катарального мастита коров комплексным препаратом, содержащим наночастицы серебра арговит и димексид / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2021102022; заявл. 28.01.2021; опубл. 13.10.2021; Бюл. №29.

35. Пат. 2763998 Российская Федерация МПК А61К9/08, А61К33/38. Способ терапии серозного мастита коров комплексным препаратом, содержащим наночастицы серебра арговит и димексид / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр аг-

робиотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2021120276; заявл. 08.07.2021; опубл. 12.01.2022; Бюл. №2.

36. Пат. 2765284 Российская Федерация МПК А61К33/38, А61К31/10. Способ повышения антибактериальной активности наночастиц серебра в отношении *S.aureus* / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Нефедова**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2020139903; заявл. 03.12.2020; опубл. 28.01.2022; Бюл. №4.

37. Пат. 2773398 Российская Федерация МПК А61К9/50, А61К33/38. Способ повышения антибактериальной активности наночастиц серебра препаратами арговит и диметилсульфоксид в отношении *Streptococcus pyogenes* / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2021120126; заявл. 08.07.2021; опубл. 03.06.2022; Бюл. №16.

38. Пат. 2795607 Российская Федерация МПК G01N33/00, А61К33/38. Способ борьбы с биопленками *Staphylococcus aureus* препаратом на основе наночастиц серебра и диметилсульфоксида / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2022111275; заявл. 25.04.22; опубл. 05.05.2023; Бюл. №13.

39. Пат. 2795765 Российская Федерация МПК А61К33/38, А61L2/18. Способ борьбы с биопленками *E.coli* препаратом, содержащим наночастицы серебра / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2022111277; заявл. 25.04.22; опубл. 11.05.2023; Бюл. № 14.

40. Пат. 2822623 Российская Федерация МПК G01N33/48, C12Q1/18. Способ исследования снижения биопленкообразования *Escherichia coli* лечебной композицией, содержащей наночастицы серебра и ципрофлоксацин / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2023106580 от 20.03.2023; опубл. 10.07. 2024; Бюл. №19.

41. Пат. 2822551 Российская Федерация МПК C12Q1/24, C12N1/20. Способ снижения биопленкообразования *Streptococcus pyogenes* препаратом, содержащим наночастицы серебра / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агrobiотехнологий Российской академии наук (RU). – № 2022125563; заявл. 29.09.2022; опубл. 09.07. 2024; Бюл. №19.

42. Пат. 2823032 Российская Федерация МПК G01N33/15, C12Q1/18. Способ исследования снижения биопленкообразования *Staphylococcus aureus* лечебной композицией, содержащей наночастицы серебра и цефтиофур / **Е.В. Нефедова**, Н.Н. Шкиль; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский федеральный научный центр агробιοтехнологий Российской академии наук (RU). – № 2023104707; заявл. 28.02.2023; опубл. 17.07. 2024; Бюл. №20.

Публикации в других изданиях

43. Шкиль, Н.Н. Оценка эффективности лечения субклинического и серозного маститов коров препаратами различных фармакологических групп / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Филатова** // Вклад молодых учёных в аграрную науку: материалы междунар. науч.-практ. конф. молодых учёных, аспирантов и студентов (Кинель, 22-23 апреля 2015 г.). – Самара, 2015.– С.192-196.

44. Шкиль, Н.Н. Строение наноструктур препаратов серебра арговит и результаты его применения в ветеринарии / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Филатова**, В.А. Бурмистров // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: материалы XIV Сибирской ветеринарной конференции / Новосиб. гос. аграрн. ун-т. - Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2015. – С. 125-128.

45. Шкиль, Н.Н. Оценка эффективности лечения мастита коров препаратами различных фармакологических групп / Н.Н. Шкиль, **Е.В. Филатова** // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: материалы XIV Сибирской ветеринарной конференции / Новосиб. гос. аграрн. ун-т. - Новосибирск: ИЦ НГАУ «Золотой колос», 2015 – С.128-131.

46. **Нефедова, Е.В.** Эффективность лечения катарального мастита коров препаратами различных фармакологических групп / Е.В. Нефедова // Вклад молодых учёных в аграрную науку: материалы междунар. науч.-практ. конф. молодых учёных, аспирантов и студентов (Кинель, 22-23 апреля 2016 г.). – Самара, 2016. – С. 237-238.

47.**Нефедова, Е.В.** Специфичность диагностики субклинического мастита коров / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Актуальные проблемы агропромышленного комплекса: сб. тр. науч.-практ. конф. преподавателей, аспирантов, магистрантов и студентов ИЦ НГАУ "Золотой колос". – Новосибирск, 2018. – С. 115-117.

48. **Нефедова, Е.В.** Влияние препаратов на специфичность диагностики серозного мастита коров / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль // Роль аграрной науки в устойчивом развитии сельских территорий: сб. III Всероссийской (национальной) науч. конф. (Новосибирск, 20 декабря 2018 г.). – Новосибирск, 2018.– С. 756-758.

49. **Нефедова, Е.В.** Влияние препаратов на специфичность диагностики при терапии катарального мастита коров / Е.В. Нефедова, Н.Н. Шкиль, В.И. Филатов // Теория и практика современной аграрной науки: сб. II Национальной (Всероссийской) конф. ИЦ НГАУ "Золотой колос" (Новосибирск, 26 февраля 2019 г.). – Новосибирск, 2019. – С. 418-420.

50. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра препарата арговит на антибиотикорезистентность бактерий при лечении катарального мастита коров / Е.В. Нефедова // Вклад молодых ученых в аграрную науку: материалы междунар. науч.-практ. конф. молодых учёных, аспирантов и студентов (Кинель, 17 апреля 2019 г.). – Самара, 2015. – С.170-173.

51. **Нефедова, Е.В.** Адьювантные свойства наночастиц серебра при оценке бактерицидной активности антимикробных препаратов / Е.В. Нефедова // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, Казахстана, Белоруссии и Болгарии: сб. XXII междунар. науч.-практич. конф., посвящ. 50-летию образования Сибирского отделения Российской академии сельскохозяйственных наук и 70-летию Якутского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук (Якутск, 14-15 августа 2019 г.). – Якутск, 2019. – С. 249-252.

52. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра препарата арговит на антибиотикорезистентность бактерий при терапии / Е.В. Нефедова // Новости науки и АПК: сб. IX междунар. конф. Инновационные разработки молодых учёных – развитию агропромышленного комплекса. – Ставрополь, 2019. – С. 234-237.

53. **Нефедова Е.В.** Совершенствование терапии субклинического мастита коров препаратами различных фармакологических групп / Е.В. Нефедова // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых: сб. VIII междунар. науч.-практ. конф. посвящ. 50-летию создания совета молодых ученых при СО ВАСХНИЛ. (р.п. Краснообск, 24 марта 2021 г.). – Новосибирск, 2021. – С. 210–212.

54. Макарова, Л.П. Влияние препаратов различных фармакологических групп на процесс биопленкообразования / Л.П. Макарова, **Е.В. Нефедова** // Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства: сб. V междунар. науч.-практ. конф. (Макеевка, 21 апреля 2022 г.). – Донбасс, 2022. – С. 62-65.

55. **Нефедова, Е.В.** Влияние препаратов различных фармакологических групп на изменение антибиотикочувствительности *E.coli* ATCC 25922 / Е.В. Нефедова // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных и пути их решения: материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. дню Белорусской науки и 95-летию кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней, Витебск, 15-16 декабря 2022 г. / УО ВГАВМ; ред. кол.: Н.И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: ВГАВМ, 2023. – С. 91-93.

56. **Нефедова, Е.В.** Влияние препаратов различных фармакологических групп антибиотиков на изменение чувствительности *E.coli* ATCC 25922 / Е.В. Нефедова // Состояние и перспективы индустриально инновационного развития агропромышленного комплекса республики Казахстан, посвящ. 70-летию Семипалатинского зоотехническо-ветеринарного института и 80-летнему юбилею д-ра ветеринарных наук, проф. Токаева З.К.: материалы междунар. науч.-практ. конф. – Казахстан, 2022. – С. 87-89.

57. **Нефедова, Е.В.** Влияние препаратов серебра как в моно варианте, так и в сочетании с антибактериальными средствами на процесс биопленкообразования / Е.В. Нефедова // Состояние и перспективы индустриально инновационного развития агропромышленного комплекса республики Казахстан, посвящ. 70-летию Семипалатинского зоотехническо-ветеринарного института и 80-летию юбилею д-ра ветеринарных наук, профессора Токаева З.К.: материалы междунар. науч.-практ. конф. – Казахстан, 2022. – С. 86-87.

58. Даурцева, А.А. Влияние препаратов различных фармакологических групп на изменение чувствительности штамма *S.aureus* ATCC 25953 / А.А. Даурцева, **Е.В. Нефедова** // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, стран СНГ и BRICS: сб. науч. докл. XXV междунар. науч.-практ. форума (Краснообск, 29 ноября 2022 г.). – Новосибирск: СФНЦА РАН, 2023. – С. 271-273.0

59. **Нефедова, Е.В.** Влияние наночастиц серебра на бактерицидную активность и антибиотикочувствительность *S.pyogenes*/ Е.В. Нефедова // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, стран СНГ и BRICS: сб. науч. докл. XXV междунар. науч.-практ. форума (Краснообск, 29 ноября 2022 г.). – Новосибирск: СФНЦА РАН, 2023. – С. 295-296.

60. Талабыкина, Д.М. Влияние антибактериальных препаратов на процесс биопленкообразования микроорганизмов / Д.М. Талабыкина, **Е.В. Нефедова** // Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Монголии, стран СНГ и BRICS: сб. науч. докл. XXV междунар. науч.-практ. форума (Краснообск, 29 ноября 2022 г.). – Новосибирск: СФНЦА РАН, 2023. – С. 308-309.

61. **Нефедова, Е.В.** Влияние препаратов различных фармакологических групп на изменение чувствительности референтного штамма *P.vulgaris* ATCC 6380 / Е.В. Нефедова, А.А. Даурцева // Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства: материалы VI междунар. науч.-практ. конф. (Макеевка, 6 апреля 2023 г.). – Донбасс, 2022. – С. 61-64.

62. **Нефедова, Е.В.** Регуляция биопленкообразования микроорганизмов антибактериальными препаратами / Е.В. Нефедова, Д.М. Талабыкина // Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства: материалы VI междунар. науч.-практ. конф. (Макеевка, 6 апреля 2023 г.). – Донбасс, 2022. – С. 65-67.

63. **Нефедова, Е.В.** Влияние лекарственных препаратов на процесс биопленкообразование микроорганизмов при терапии мастита у коров / Е.В. Нефедова // Новейшие направления развития аграрной науки в работах молодых ученых: материалы IX междунар. науч.-практ. конф. (р.п. Краснообск, 20 апреля 2023 г.). – Новосибирск, 2023. – С. 97-99.

64. **Нефедова, Е.В.** Влияние антимикробных препаратов на биопленкообразование референтного штамма *P.vulgaris* ATCC 6380 / Е.В. Нефедова // Актуальные проблемы науки и практики в исследованиях молодых ученых:

сб. I междунар. науч.-практ. конф. (Новосибирск, 21-22 мая 2024 г.). – Новосибирск, 2024. – С. 64-67.

65. **Нефедова, Е.В.** Влияние препарата арговит на адгезивную активность микроорганизмов, изолированных при лечении гнойно-катарального эндометрита у коров / Е.В. Нефедова // Актуальные проблемы науки и практики в исследованиях молодых ученых: сб. I междунар. науч.-практ. конф. (Новосибирск, 21-22 мая 2024 г.). – Новосибирск, 2024. – С. 67-70.

66. **Нефедова, Е.В.** Экономическая оценка эффективности медикаментозной терапии больных послеродовым гнойно-катаральным эндометритом коров / Е.В. Нефедова // Актуальные проблемы науки и практики в исследованиях молодых ученых: сб. I междунар. науч.-практ. конф. (Новосибирск, 21-22 мая 2024 г.). – Новосибирск, 2024. – С. 74-76.