

УДК 636.2:618.591.19

Строяновська Л. В.

*аспірантка кафедри гігієни тварин та ветеринарного забезпечення кінологічної служби
Національної поліції України,
Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»
Кам'янець-Подільський, Україна
E-mail: liliastroianovska18@gmail.com
ORCID: 0000-0002-1797-996X*

Супрович Т. М.

*доктор сільськогосподарських наук,
професорка, завідувачка кафедри гігієни тварин та ветеринарного забезпечення кінологічної служби
Національної поліції України,
Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»
E-mail: suprovycht@gmail.com
ORCID: 0000-0003-4708-6692*

ІМУНОБІОЛОГІЧНА РЕАКТИВНІСТЬ ОРГАНІЗМУ КОРІВ ІЗ КЛІНІЧНИМ ЗАПАЛЬНИМ ПРОЦЕСОМ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ЗА ДІЇ ЛІПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НА ОСНОВІ ЕТИЛТІОСУЛЬФАНІЛАТУ

Анотація

Мастит корів має багатофакторну природу, що суттєво ускладнює його лікування. Однією з причин захворювань молочної залози є бактеріальна мікрофлора. З огляду на обмежене застосування антибактеріальних препаратів, актуальним є використання під час лікування маститу нових альтернативних антимікробних засобів. Тому мета досліджень полягала в з'ясуванні впливу нового ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату на функціональний стан чинників імунної системи в корів із клінічним запальним процесом молочної залози. У крові хворих корів виявлено підвищену кількість лейкоцитів (на 53,3%), яскраво виражену лімфопенію, зменшення кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну; уміст загального білку був на 12,1% ($p < 0,05$) менший, ніж у здорових тварин. Імунна система хворих корів реагує зниженням популяції імуннокомпетентних клітин. За внутрішньом'язового введення хворим коровам трічі з інтервалом 24 години дослідного препарату дозою 20 мл на 7-у добу після початку лікування констатовано зменшення загальної кількості лейкоцитів на 22,3% і підвищення вмісту загального протеїну в сироватці крові на 13,4% ($p < 0,001$). Зафіксовано зниження кількості нейтрофільних гранулоцитів і підвищення кількості лімфоцитів на 3-ю ($p < 0,05$) і 7-у добу ($p < 0,001$) експерименту, що свідчить про згасання запального процесу. Уведення хворим тваринам досліджуваного ліпосомального препарату сприяло зростанню кількості Т-лімфоцитів і підвищенню їх функціональної активності, особливо ці зміни виражені на 7-у добу після введення препарату. Для лікування тварин із катаральною формою маститу достатньо було 2–3-х ін'єкцій. Терапевтичний ефект настав через 48–96 годин і становив 89,9%.

***Ключові слова:** корова, мастит, лейкоцитарний профіль, ліпосомальний препарат, етилтіосульфанілат, субпопуляції Т- й В-лімфоцитів.*

Вступ. Мастит є однією з основних причин зниження продуктивності корів і погіршення санітарної якості молока. Молоко від хворих корів утрачає свої поживні властивості, стає непридатним для технологічної переробки. Молодняк, який отримувач молоко від хворих на мастит корів, погано розвивається, страждає від дисбактеріозу або диспепсії, часто гине. Телиці, які перехворіли в ранньому постнатальному періоді, мають на 20–30% нижчі надії молока, ніж ті, що не хворіли. Крім того, секрет хворих на мастит корів містить мікроорганізми, які негативно впливають на якість молочної продукції, а також можуть викликати різні захворювання людини [9; 11; 19; 23; 27]. Крім того, мастит має вагомe значення в контексті One Health, тому що інфекція негативно впливає на здоров'я та благополуччя уражених тварин, існує ймовірність передачі людині бактерій із молоком тварин, є можливість передачі генів стійкості до антибіотиків через молоко, вироблене для споживання людиною [15; 33].

За різними оцінками, захворюваність корів в Україні в середньому сягає 30%, а в окремих господарствах у разі порушення умов утримання, годівлі, відсутності належного ветеринарного обслуговування й ефективної селекційної роботи діагностується постійно [8]. Аналіз літературних джерел показує, що середній рівень захворюваності на мастит становить від 10% при клінічних формах і до 25% при субклінічних формах, а в окремих регіонах може сягати до 70% [1; 3; 5; 28].

Основною стратегією лікування маститу є використання антибіотиків, які можна вводити шляхом інфузії в молочну залозу, або внутрішньом'язових і внутрішньовенних ін'єкцій [16]. Антимікробне лікування маститу в молочних корів зазвичай вважається необхідним для підтримання балансу між економікою, добробутом тварин

і здоров'ям вим'я. Однак поява штамів, резистентних до антимікробних препаратів, стає однією з найбільших загроз глобальному здоров'ю, продовольчій безпеці й суспільному розвитку [21; 37].

Проблеми стійкості до антибіотиків, необхідність скорочення їх використання в молочній промисловості, а також мінімізація фінансових утрат вимагають використання нових підходів у лікуванні маститу корів. Сьогодні існує та використовується низка сучасних методик і препаратів для вирішення цієї проблеми: терапія нестероїдними протизапальними препаратами [30; 36], застосування фітопрепаратів [25; 38], антимікробних пептидів [17] і бактеріофагів [10; 12; 18; 20].

Серед інших методик лікування, які застосовуються досить обмежено, необхідно виділити такі нетрадиційні варіанти: субстанції на рослинній основі [14; 22], пробіотики [26], фотодинамічну терапію [32], акустичну пульсотерапію [24], холодну лазерну терапію [31] тощо.

В Україні й за кордоном усе частіше під час лікування маститу корів застосовуються ліпосомальні препарати [2; 4; 6; 7; 35]. Ліпосоми з посиленою доставкою ліків до місць захворювання завдяки здатності тривалого часу перебування в кровообігу зараз досягають клінічного визнання. Крім того, ліпосоми сприяють націлюванню на певні хворі клітини в осередку захворювання. Нарешті, ліпосомальні препарати виявляють знижену токсичність і зберігають підвищену ефективність порівняно з вільними компонентами. Виходячи з фармацевтичних застосувань і доступних продуктів, ми можемо сказати, що ліпосоми, безперечно, закріпили своє місце в сучасних системах лікування тварин.

Мета статті – дослідити функціональний стан природної резистентності в корів із клінічним запальним процесом молочної залози під час використання ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату, розробленого Інститутом біології тварин НААН.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведено у фермерському господарстві «Подільська марка» Кам'янець-Подільського району Хмельницької області на дійних коровах 2–3 лактації, поділених на контрольну й дослідну групи, по 5 тварин у кожній. Контрольну групу сформовано з клінічно здорових тварин, а дослідну – рандомно відібрано корови з катаральною формою маститу.

Коровам дослідної групи внутрішньом'язово тричі з інтервалом 24 години вводили новий комплексний ліпосомальний препарат на основі етилтіосульфанілату (ЕТС) дозою 20 мл на тварину, а тваринам контрольної – еквівалентну дозу натрію хлориду. Ліпосомальний препарат виготовлений у лабораторії імунології Інституту біології тварин НААН. Він містить комбінацію субстанцій з антимікробною дією та допоміжних речовин із таким співвідношенням компонентів на 10 см³ препарату: етилтіосульфанілат – 90–110 мг, вітамін А – 160–170 Од, вітамін D3 – 220–230 Од, вітамін Е – 0,2–0,4 мг, лецитин – 20–30 мг, твін – 0,04–0,06 см³, вода для ін'єкцій – до 10 см³. Указану суміш змішували й диспергували на ультразвуковому диспергаторі УЗДН-1 при частоті 22 кГц упродовж 2–3 хвилин до утворення тонкої емульсії [25].

Корови були переведені на 2–3 разове ручне доїння з одночасним легким масажем зверху вниз. Матеріалом для проведення лабораторних досліджень слугувала кров корів на 1-, 3- та 7-у добу після початку експерименту.

У цільній крові визначали кількість еритроцитів і лейкоцитів у сітці камери Горяєва, уміст гемоглобіну геміглобінціанідним методом, співвідношення окремих форм лейкоцитів. У стабілізованій гепарином крові визначали кількість Т-лімфоцитів (Е-РУЛ) – у реакції спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана, їх субпопуляції – Т-хелпери; кількість «активних» Т-РУЛ; кількість Т-клітин із переважно супресорною активністю (ТФЧ; Т-лімфоцити) шляхом віднімання числа теофілінрезистентних Т-клітин (ТФР) від загальної кількості Т-лімфоцитів, В-лімфоцити (ЕАС-РУЛ) – у реакції комплементарного розеткоутворення з еритроцитами барана. Під час підрахунку кількості Т- й В-лімфоцитів і їх регуляторних субпопуляцій на фіксованих і фарбованих мазках крові визначали лімфоцити з низькою (3–5) і середньою (6–10) щільністю рецепторів, а також недиференційовані у функціональному стосунку лімфоцити [4].

Упродовж періоду досліджень спостерігали за клінічним станом корів, контролювали стан молочної залози – огляд, пальпацію, пробне здоювання.

Одержані цифрові дані опрацювали статистично з використанням програмного пакету Microsoft Excel для персональних комп'ютерів, за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики з оцінюванням середнього (M), його похибки (m), вірогідність змін установлювали за t-критерієм Стьюдента.

Виклад основного матеріалу дослідження. Клінічна симптоматика катарального маститу мала особливості, які визначалися характером етіологічного чинника, перебігом процесу й індивідуальними особливостями організму. Патологічний процес супроводжувався поширенням запальної реакції з вираженою катаральною ексудацією. Загальний стан тварини залишався задовільним. Під час пальпації ураженої чверті вим'я виявляли підвищення місцевої температури й невелику болючість, у товщі тканин ущільнення. Секреція молока знижувалася. З ураженої частки видоювали водянисте молоко з домішкою згустків і пластівців казеїну.

Катаральне запалення молочної залози в корів супроводжувалося певними змінами в гематологічних показниках периферичної крові (таблиця 1). У хворих тварин спостерігалось зменшення кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну, також у них кількість лейкоцитів була більшою на 53,3% ($p < 0,01$), ніж у тварин контрольної групи, що свідчить про виражений лейкоцитоз. Уміст загального білку в сироватці крові корів дослідної групи був на 12,1% ($p < 0,05$) менший, ніж у контрольній групі.

Таблиця 1. Гематологічні й біохімічні показники крові корів за катарального маститу (M±m; n=5)

Показники	Групи тварин	Період дослідження		
		до введення препарату	3-я доба після початку лікування	7-а доба після початку лікування
Гемоглобін, г/л	Контрольна	102,2±0,06		
	Етилтіосульфанілат	95,1±1,03	98,3±1,32	101,2±1,20
Еритроцити, Т/л	Контрольна	6,61±0,24		
	Етилтіосульфанілат	6,05±0,12	6,25±0,23	6,42±0,15
Загальний білок, г/л	Контрольна	73,16±0,12		
	Етилтіосульфанілат	65,25±0,12*	68,40±0,12	74,02±0,01***
Лейкоцити, Г/л	Контрольна	7,5±0,65		
	Етилтіосульфанілат	11,5±0,13**	10,4±0,86*	9,4±0,75

Примітка: у цій таблиці й наступних таблицях: ° – p<0,05, °° – p<0,01, °°° – p<0,001 – вірогідність у тварин цієї групи порівняно до введення препарату (1-ї доби експерименту); * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001 – різниця вірогідна порівняно з контрольною групою.

За внутрішньом'язового введення хворим коровам комплексного ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату на 7-у добу після початку лікування спостерігалось зменшення загальної кількості лейкоцитів на 22,3% і підвищення вмісту загального протеїну в сироватці крові на 13,4% (p<0,001) порівняно з рівнем цих показників, зафіксованим на 1-у добу експерименту. Уміст загального білка на 7-у добу після початку лікування був на 1,18% (p<0,05) більший порівняно з його вмістом у сироватці крові тварин контрольної групи.

Під час дослідження лейкоцитарного профілю (таблиця 2) встановлено, що у крові хворих на катаральний мастит корів порівняно з клінічно здоровими кількість сегментоядерних нейтрофілів збільшилася в 1,19 раза, а паличкоядерних гранулоцитів – у 1,86 раза. Ці дані вказують на нейтрофільний лейкоцитоз у крові хворих корів. При цьому зафіксовано яскраво виражену лімфопенію у тварин із клінічними проявами маститу: кількість лімфоцитів вірогідно менша на початку експерименту (p<0,001) і на 3-ю добу (p<0,05) порівняно зі здоровими тваринами.

Триразове внутрішньом'язове введення ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату спричинило зниження кількості нейтрофільних гранулоцитів і підвищення кількості лімфоцитів на 3-ю (p<0,05) і 7-у добу (p<0,001) експерименту порівняно із цим показником перед початком лікування. Це свідчить про згасання запального процесу.

Таблиця 2. Лейкоцитарний профіль крові корів (M±m; n=5)

Показники	Групи тварин	Період дослідження		
		до введення препарату	3-я доба після початку лікування	7-а доба після початку лікування
Базофіли, %	Контрольна	0,6±0,01		
	Етилтіосульфанілат	0,7±0,25	0,8±0,20	0,6±0,15
Еозинофіли, %	Контрольна	4,3±0,65		
	Етилтіосульфанілат	5,9±0,12	5,0±0,21	4,7±0,15
Паличкоядерні нейтрофіли, %	Контрольна	3,7±0,45		
	Етилтіосульфанілат	6,9±1,50	3,8±0,42	3,7±0,15
Сегментоядерні нейтрофіли, %	Контрольна	28,5±0,15		
	Етилтіосульфанілат	34,1±0,15	32,5±1,05	29,50,55
Лімфоцити, %	Контрольна	60,5±0,15		
	Етилтіосульфанілат	48,0±1,12***	55,1±0,61*°	55,0±1,24°°°
Моноцити, %	Контрольна	3,8±0,66		
	Етилтіосульфанілат	4,0±0,89	4,0±0,84	3,8±0,66

Важливим етапом у розвитку імунної відповіді організму тварин на дію шкідливих чинників є міграція Т- й В-лімфоцитів із тимусу та кісткового мозку. Їх кількість у крові тварин характеризує функціональну активність імунної системи. Результати досліджень популяційного й субпопуляційного складу Т- й В-лімфоцитів у крові корів виявили (таблиця 3), що імунна система корів, хворих на катаральну форму маститу, реагує зниженням популяції імунокомпетентних клітин.

Зокрема, кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) у крові корів дослідної групи до введення препарату була, відповідно, на 9,3% (p<0,001), 9,0 (p<0,01) і 5% (p<0,001) менша, ніж у контрольній. Указані зміни кількості Т-лімфоцитів у крові хворих корів відбувалися на тлі зменшення (p<0,001) субпопуляцій із низькою щільністю рецепторів і збільшення (p<0,001) «нульових», недиференційованих у функціональному стосунку клітин.

В-лімфоцити значною мірою забезпечують гуморальний імунітет у організмі, оскільки синтезують специфічні антитіла (імуноглобуліни), а також впливають на активність деяких популяцій Т-лімфоцитів, беручи участь у реакціях клітинного імунітету. З одержаних результатів випливає, що зміни кількості ЕАС-РУЛ у корів дослідної групи до введення препарату порівняно з контрольною були нестатистично значимими.

Внутрішньом'язове введення коровам дослідної групи досліджуваного препарату спричиняло стимулювальний вплив на кількість Т-лімфоцитів у крові, про що свідчить зростання кількості ТЕ-РУЛ і Th-РУЛ у крові хворих корів на 3-ю й, особливо, 7-у добу експерименту порівняно з періодом до лікування. Разом із цим необхідно зауважити, що кількість Т-лімфоцитів (загальних, активних і теофілін-резистентних) у крові корів дослідної групи після введення препарату залишалася вірогідно менша, ніж у контрольній у всі досліджувані періоди.

Таблиця 3. Відносна кількість Т- й В-лімфоцитів і їх субпопуляцій у крові корів (M±m; n=5)

Показники	Гр. тв.	Період досліджень		
		до введення препарату	3-я доба лікування	7-а доба від початку лікування
ТЕ-РУЛ, 0	К	32,0±0,20	35,5±1,75	33,5±1,04
	Д	41,2±0,25***	41,25±0,62***	37,25±0,63***
3-5	К	53,5±0,28	52,75±1,10	53,0±0,40
	Д	45,0±0,40***	48,25±0,47**	50,0±0,40***
6-10	К	13,0±0,57	10,5±0,64	11,75±0,63
	Д	12,5±0,28	9,5±0,28 ^{oo}	11,25±0,48
М	К	1,5±0,28	1,25±0,47	1,75±0,28
	Д	1,25±0,47	1,0±0	1,5±0,28
%	К	68,0±0,57	64,5±1,75	66,5±1,04
	Д	58,7±0,25***	58,75±0,62*	62,75±0,62*
ТА-РУЛ, 0	К	55,75±0,47	61,25±0,47	56,5±0,86
	Д	64,75±0,47***	64,0±0,41**	63,0±0,70*
3-5	К	35,5±0,64	30,0±0,40	34,5±0,28
	Д	28,75±0,47***	28,5±0,64*	30,2±0,62***
6-10	К	7,5±0,64	7,0±0,40	8,0±0,57
	Д	6,0±0,40	6,75±0,25	6,25±0,48
М	К	1,25±0,47	1,5±0,28	1,0±0
	Д	0,5±0,28	0,75±0,25	0,5±0,28
%	К	44,25±0,48	38,5±0,28	43,5±0,86
	Д	35,25±0,48**	36,0±0,40	37,0±0,70**
Th-РУЛ,0	К	56,5±0,28	50,5±0,28	51,0±0,47
	Д	61,5±0,64***	60,00±0,62***	58,25±0,62*** ^{oo}
3-5	К	36,5±0,28	40,75±0,47	41,0±0,57
	Д	32,0±0,91***	34,00±0,47***	36,0±0,40*** ^{oo}
6-10	К	7,0±0,41	8,75±0,25	8,0±0,57
	Д	6,5±0,64	6,0±0,40**	5,75±0,47*
%	К	43,5±0,28	49,5±0,28	49,0±0,57
	Д	38,5±0,64***	40,00±0,63***	41,75±0,63*** ^{oo}
ЕАС-РУЛ,0	К	60,25±0,85	57,5±0,28	61,75±0,63
	Д	63,0±0,70	61,0±0,40***	60,25±1,03
3-5	К	35,0±0,40	37,5±0,28	33,0±0,40
	Д	32,0±0,70	34,5±0,28***	34,0±0,91
6-10	К	4,75±0,47	5,0±0,28	5,25±0,25
	Д	5,0±0,40	4,5±0,28	5,75±0,48
%	К	39,75±0,85	42,5±0,28	38,25±0,63
	Д	37,0±0,70	39,0±0,40*** ^{oo}	39,75±1,03
Ts супресори	К	24,25±0,25	15,0±1,77	17,5±0,47
	Д	20,2±0,47*	17,0±0,40 ^{oo}	21,0±0,40
ІРІ	К	2,55±0,02	2,37±0,02	1,89±0,07
	Д	2,45±0,08	2,35±0,02	1,58±0,03

Проте на 7-у добу після введення досліджуваного препарату вказані зміни були виражені меншою мірою, ніж до лікування. Про wt також указує збільшення кількості теофілін-резистентних Т-лімфоцитів у крові корів на 7-у добу експерименту (p<0,01) порівняно з періодом до лікування. У крові корів дослідної групи на 3-ю добу після введення досліджуваного препарату зафіксовано вірогідно меншу кількість В-лімфоцитів на тлі зниження низькоавідних і збільшення «нульових» ЕАС-РУЛ.

Таким чином, результати проведених досліджень дають підставу стверджувати, що захворювання корів на катаральну форму маститу спричиняє значний імуносупресивний вплив на кількість Т-лімфоцитів і їх функціональну активність. Уведення хворим тваринам досліджуваного ліпосомального препарату спричиняло позитивний вплив на стан Т- й В-клітинної ланок імунітету (сприяло зростанню кількості Т-лімфоцитів і підвищенню їх функціональної активності), особливо ці зміни виражені на 7-у добу після введення досліджуваного препарату.

За період досліду проліковано 11 корів із катаральним маститом. Для лікування тварин із клінічною формою маститу достатньо було 2–3-х ін'єкцій. Терапевтичний ефект наставав через 48–96 годин і становив 89,9%. Упродовж 3–4 діб загальний клінічний стан нормалізувався, уражені частки молочної залози зменшувалися в об'ємі, зникала набряклість шкіри та болючість. На 5 добу продуктивність відновилася на рівні 84%.

Висновки. Внутрішньом'язове введення ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату позитивно вплинуло на імунологічні й біохімічні параметри крові корів за катарального маститу. У крові хворих тварин на 7-у добу досліду зафіксовано зростання абсолютної кількості лейкоцитів, зменшення відносної частки лімфоцитів і збільшення сегментоядерних нейтрофілів, зниження вмісту загального протеїну.

Уведення хворим тваринам досліджуваного ліпосомального препарату спричиняло позитивний вплив на стан Т- й В-клітинної ланок імунітету (сприяло зростанню кількості Т-лімфоцитів і підвищенню їх функціональної активності), особливо ці зміни виражені на 7-у добу після введення досліджуваного препарату.

Для лікування корів із катаральною формою маститу достатньо було 2–3-х внутрішньом'язових ін'єкцій ліпосомального препарату на основі етилтіосульфанілату. Терапевтичний ефект наставав через 48–96 годин і становив 89,9%.

Список використаних джерел

1. Вальчук О.А., Столюк В.О. Мастит корів – ефективні шляхи вирішення проблеми. *Ветеринарна практика*. 2009. № 4. С. 30–33.
2. Вплив органічного ліпосомального препарату йоду на біохімічні показники крові корів-первісток / І.І. Гевкан та інші. *Науково-технічний бюлетень*. 2013. № 109 (1). С. 63–69.
3. Кондрашов М.С. Поширеність мікозного маститу серед дійних корів. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*. 2010. Т. 12. № 3 (45). Ч. 1. С. 99–102.
4. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині / В.В. Влізла, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін. ; за ред. В.В. Влізла. Львів, 2012. 759 с.
5. Масс А.О., Овчаренко Г.В., Васецька А.І. Ефективність діагностики, профілактики та терапії корів, хворих на мастит. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*. 2016. Т. 18. № 1 (65). Ч. 1. С. 101–104.
6. Понкало І., Ковальчук Н. Активність ензимів антиоксидантного захисту у молозиві корів за дії ліпосомальних препаратів. *Вісник Львівського університету. Серія «Біологічна»*. 2016. Вип. 73. С. 186–190.
7. Рацький М.І. Гематологічний профіль корів різного рівня продуктивності та їх телят, за дії ліпосомального препарату. *Ветеринарна біотехнологія*. 2018. № 32 (1). С. 207–211.
8. Рудик І.А., Даниленко В.П. Селекція молочної худоби за стійкістю до маститу. *Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету*. Вінниця, 2011. Вип. 8 (48). С. 54–58.
9. Супрович Т.М., Влізла В.В. Використання імуногенетичних маркерів для виявлення корів, резистентних або чутливих до маститів. *Біологія тварин*. 2013. Т. 15. № 4. С. 119–127.
10. Characterization and genome sequencing of a novel bacteriophage infecting *Streptococcus agalactiae* with high similarity to a phage from *Streptococcus pyogenes* / Q. Bai et al. *Archives of virology*. 2013. Vol. 158 (8). P. 1733–1741. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1667-x>.
11. Brahim N. Review on mastitis and its economic effect. *Canadian Journal of Scientific Research*. 2017. Vol. (1). P. 13–22. DOI: [10.5829/idosi.cjsr.2017.13.22](https://doi.org/10.5829/idosi.cjsr.2017.13.22).
12. Cheng W., Han S.G. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments – A review. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 2020. Vol. 33 (11). P. 1699–1713. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0156>.
13. Influence of liposomal drug on the intensity of proteins oxide modification processes in subclinical mastitis of cows / V.A. Chepurna et al. *The Animal Biology*. 2021. № 23 (2). P. 3–7. DOI: [10.15407/animbiol23.02.003](https://doi.org/10.15407/animbiol23.02.003).
14. Chouhan S., Sharma K., Guleria S. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils – Present Status and Future Perspectives. *Medicines*. 2017. Vol. 4 (3). P. 58. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>.
15. Garcia S N., Osburn B.I., Cullor J.S. A one health perspective on dairy production and dairy food safety. *One health (Amsterdam, Netherlands)*. 2019. № 7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2019.100086>.
16. Bovine Mastitis and Its Therapeutic Strategy Doing Antibiotic Sensitivity Test / M.K. Hossain et al. *Austin Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry*. 2017. Vol. 4 (1). P. 1030.
17. Huan Y., Kong Q., Mou H. Antimicrobial peptides: classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in microbiology*. 2020. № 11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>.
18. Bacteriophage ФSA012 has a broad host range against *Staphylococcus aureus* and effective lytic capacity in a mouse mastitis model / H. Iwano et al. *Biology*. 2018. Vol. 7 (1). P. 8. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology7010008>.
19. Dufour S. Invited review Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows / H. Jamali et al. *Journal of dairy science*. 2018. Vol. 101 (6). P. 4729–4746. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13730>.
20. Phage Therapy: A renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria / K.E. Kortright et al. *Cell host & microbe*. 2019. Vol. 25 (2). P. 219–232. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014>.
21. Krömker V., Leimbach S. Mastitis treatment – reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*. 2017. Vol. 52. P. 21–29. DOI: [10.1111/rda.13032](https://doi.org/10.1111/rda.13032).
22. Development of unconventional treatments for mastitis in dairy cattle / A.A. Kukeeva et al. *Open veterinary journal*. 2023. № 13 (2). P. 193–201. DOI: <https://doi.org/10.5455/OVJ.2023.v13.i2.7>.

23. Autogenous vaccines are an effective means of controlling the epizootic process of mastitis in cows / B.M. Kurtyak et al. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2021. № 11 (3). P. 145–152. DOI:10.15421/2021_157.
24. Assessment of acoustic pulse therapy (APT), a non-antibiotic treatment for dairy cows with clinical and subclinical mastitis / G. Leitner et al. *PLoS one*. 2018. Vol. 13 (7). e0199195. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199195>.
25. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis / T.S. Lopes et al. *Research in veterinary science*. 2020. № 131. P. 186–193. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.025>.
26. Research progress on the association between mastitis and gastrointestinal microbes in dairy cows and the effect of probiotics / Luo S. et al. *Microbial pathogenesis*. 2022. № 173 (Pt A). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105809>.
27. Bovine mastitis, a worldwide impact disease: Prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches / A.L. Morales-Ubaldo et al. *Veterinary and animal science*. 2023. Vol. 21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vas.2023.100306>.
28. Paladiychuk O.R. The preventive measures of mastitis in cows during the dry period. *Colloquium-journal (Veterinary sciences)*. 2021. Vol. 90. P. 9–15.
29. Liposomal and CpG-ODN formulation elicits strong humoral immune responses to recombinant *Staphylococcus aureus* antigens in heifer calves / I.G. Reidel et al. *Veterinary immunology and immunopathology*. 2019. Vol. 212. P. 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2019.04.011>.
30. Ricciotti E., FitzGerald G.A. Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2011. Vol. 31 (5). P. 986–1000. DOI: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>.
31. Shrestha B., Neupane R., Paudyal S. Non-antibiotic management of mastitis in dairy cattle. Texas A&M AgriLife Organic. URL: <https://agrilifeorganic.org/2024/03/16/non-antibiotic-management-of-mastitis-in-dairy-cattle/>.
32. Sperandio F.F., Huang Y.Y., Hamblin M.R. Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-negative bacteria. *Recent patents on anti-infective drug discovery*. 2013. Vol. 8 (2). P. 108–120. DOI: <https://doi.org/10.2174/1574891x113089990012>.
33. Sudipa Maity, Kiran Ambatipudi. Response to Comments on “Mammary microbial dysbiosis leads to the zoonosis of bovine mastitis: a One-Health perspective” by Maity and Ambatipudi. *FEMS Microbiology Ecology*. 2021. Vol. 97 (8). fiab079. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab079>.
34. Influence of liposomal thiosulfonate drug on the blood parameters of cows suffering catarrhal mastitis / T. Suprovych et al. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2023. Vol. 14 (2). P. 195–202. DOI: 10.15421/022329.
35. The preparation of liposomal formulations of gentamicin and ceftiofur used in veterinary medicine / H. Susar et al. *Balikesir Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2023. Vol. 12 (3). P. 554–559. DOI: <https://doi.org/10.53424/balikesirsbd.1262051>.
36. Outcomes from Experimental Testing of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug (NSAID) Administration during the Transition Period of Dairy Cows / F. Trimboli et al. *Animals: an open access journal from MDPI*. 2020. Vol. 10 (10). DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10101832>.
37. World Health Organization. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Geneva : WHO, 2015.
38. The use of Chinese skullcap (*Scutellaria baicalensis*) and its extracts for sustainable animal production / B. Yin et al. *Animals: an open access journal from MDPI*. 2021. Vol. 11 (4). DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11041039>.

Stroyanovska L. V.

*Postgraduate student of the Department of Animal Hygiene and Veterinary Support
for the Cynological Service of the National Police of Ukraine,
Higher Educational Institution “Podillia State University”
Kamianets-Podilskyi, Ukraine
E-mail: liliastroianovska18@gmail.com
ORCID: 0000-0002-1797-996X*

Suprovych T. M.

*Doctor of Agricultural Sciences, Professor,
Head of the Department of Animal Hygiene and Veterinary Support
for the Cynological Service of the National Police of Ukraine,
Faculty of Veterinary Medicine and Technology in Animal Husbandry,
Higher Educational Institution “Podillia State University”
Kamianets-Podilskyi, Ukraine
E-mail: suprovycht@gmail.com
ORCID: 0000-0003-4708-6692*

IMMUNOBIOLOGICAL REACTIVITY OF COWS WITH CLINICAL INFLAMMATORY PROCESS OF THE MAMMARY GLAND UNDER THE INFLUENCE OF LIPOSOMAL PREPARATION BASED ON ETHYLTHIOSULFANYLATE

Abstract

Mastitis in cows has a multifactorial nature, which significantly complicates its treatment. One of the factors of mammary gland diseases is bacterial microflora. Given the limited use of antibacterial drugs, it is important to use new alternative antimicrobial agents in the treatment of mastitis. Therefore, the purpose of the study was to determine the effect of a new liposomal drug based on ethylthiosulfanylate on the functional state of immune system factors in cows with clinical mammary inflammation. In the blood of

sick cows, an increased number of leukocytes (by 53.3%), pronounced lymphopenia, a decrease in the number of red blood cells and hemoglobin content were found; the content of total protein was 12.1% ($p < 0.05$) lower than in healthy animals. The immune system of sick cows reacts with a decrease in the population of immunocompetent cells. After intramuscular injection of the experimental drug at a dose of 20 ml three times with an interval of 24 hours on the 7th day after the start of treatment, a decrease in the total number of leukocytes by 22.3% and an increase in the content of total protein in the blood serum by 13.4% ($p < 0.001$) were observed. A decrease in the number of neutrophilic granulocytes and an increase in the number of lymphocytes on the 3rd ($p < 0.05$) and 7th day ($p < 0.001$) of the experiment was recorded, indicating the extinction of the inflammatory process. The administration of the studied liposomal preparation to the sick animals contributed to an increase in the number of T-lymphocytes and an increase in their functional activity, especially these changes were expressed on the 7th day after the administration of the drug. For the treatment of animals with catarrhal mastitis, 2–3 injections were sufficient. The therapeutic effect occurred in 48–96 hours and amounted to 89.9%.

Key words: cow, mastitis, leukocyte profile, liposomal preparation, ethylthiosulfanylate, T- and B-lymphocyte subpopulations.

References

1. Valchuk, O.A., & Stoliuk, V.O. (2009). Mastyt koriv - efektyvni shliakhy vyrishennia problemy [Cow mastitis – effective ways to solve the problem]. *Veterynarna praktyka [Veterinary practice]*. № 4. p. 30–33 [in Ukrainian].
2. Hevkan, I.I., Slyvchuk, Yu.I., Shtapenko, O.V., Matiukha, I.O., Fedorova, S.V., & Syrvanka, V.Ia. (2013). Vplyv orhanichnoho liposomalnoho preparatu yodu na biokhimichni pokaznyky krovi koriv-pervistok [The effect of organic liposomal iodine preparation on biochemical parameters of blood of first-born cows]. *Naukovo-tekhnichnyi biuleten [Scientific and technical bulletin]*. № 109 (1). P. 63–69 [in Ukrainian].
3. Kondrashov, M.S. (2010). Poshyrenist mikrobnogo mastytu sered diinykh koriv [Prevalence of mycotic mastitis among dairy cows]. *Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Gzhytskoho [Scientific Bulletin of LNUVMBT named after S.Z. Grzycki]*. Vol. 12. № 3 (45). P. 1. P. 99–102 [in Ukrainian].
4. Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynyystvi ta veterynarii medytsyni [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine] V.V. Vlizlo, R.S. Fedoruk, I.B. Ratych ta in. ; Za red. V.V. Vlizla. Lviv: 2012. 759 p. [in Ukrainian].
5. Mass, A.O., Ovcharenko, H.V., & Vasetska, A.I. (2016). Efektyvnist diahnozyky, profilaktyky ta terapii koriv, khvorykh na mastyt [Efficiency of diagnosis, prevention and therapy of cows with mastitis]. *Naukovyi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Gzhytskoho [Scientific Bulletin of LNUVMBT named after S.Z. Grzycki]*. Vol. 18. № 1 (65). P. 1. P. 101–104 [in Ukrainian].
6. Pankalo, I., & Kovalchuk, N. (2016). Aktyvnist enzymiv antyoksydantnoho zakhystu u molozyvi koriv za dii liposomalnykh preparativ [Activity of antioxidant defence enzymes in cow colostrum under the influence of liposomal preparations]. *Visnyk Lvivskoho universytetu. Seriya biolohichna [Bulletin of Lviv University. Biological series]*. Vol. 73. P. 186–190 [in Ukrainian].
7. Ratskyi, M.I. (2018). Hematolohichnyi profil koriv riznoho rivnia produktyvnosti ta yikh teliat, za dii liposomalnoho preparatu [Hematological profile of cows of different productivity levels and their calves under the influence of liposomal preparation]. *Veterynarna biotekhnolohiia [Veterinary biotechnology]*, № 32 (1). P. 207–211 [in Ukrainian].
8. Rudyk, I.A., & Danylenko, V.P. (2011). Seleksiia molochnoi khudoby za stiikistiu do mastytu [Selection of dairy cattle for resistance to mastitis]. *Zb. nauk. prats Vinnytskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Vinnytsia [Collection of scientific works of Vinnytsia National Agrarian University. Vinnytsia]*, Vol. 8 (48). P. 54–58 [in Ukrainian].
9. Suprovych, T.M., & Vlizlo, V.V. (2013). Vykorystannia imunohenetychnykh markeriv dlia vyiavlennia koriv, rezystentnykh abo chutlyvykh do mastytiv [Use of immunogenetic markers to identify cows resistant or susceptible to mastitis]. *Biolohiia tvaryn [Animal biology]*. Vol. 15. № 4. P. 119–127 [in Ukrainian].
10. Bai, Q., Zhang, W., Yang, Y., Tang, F., Nguyen, X., Liu, G., & Lu, C. (2013). Characterization and genome sequencing of a novel bacteriophage infecting *Streptococcus agalactiae* with high similarity to a phage from *Streptococcus pyogenes*. *Archives of virology*, 158 (8), 1733–1741. <https://doi.org/10.1007/s00705-013-1667-x>.
11. Brahim, N. (2017). Review on mastitis and its economic effect. *Canadian Journal of Scientific Research*. 6 (1). P. 13–22. DOI: 10.5829/idosi.cjsr.2017.13.22.
12. Cheng, W.N., & Han, S.G. (2020). Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments – A review. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 33 (11), 1699–1713. <https://doi.org/10.5713/ajas.20.0156>.
13. Chepurna, V.A., Suprovych, T.M., Vishchur, O.I., Mizik, V.P., & Solovodzinska. I.Y. (2021). Influence of liposomal drug on the intensity of proteins oxide modification processes in subclinical mastitis of cows. *The Animal Biology*. 23 (2): 3–7. DOI: 10.15407/animbiol23.02.003.
14. Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial Activity of Some Essential Oils – Present Status and Future Perspectives. *Medicines*. 4 (3):58. <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>.
15. Garcia, S.N., Osburn, B.I., & Cullor, J.S. (2019). A One Health perspective on dairy production and dairy food safety. *One health (Amsterdam, Netherlands)*, 7, 100086. <https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2019.100086>.
16. Hossain, M.K., Paul, S., Hossain, M.M., Islam, M.R., & Alam, M.G.S. (2017). Bovine Mastitis and Its Therapeutic Strategy Doing Antibiotic Sensitivity Test. *Austin Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry*. 4 (1). 1030.
17. Huan, Y., Kong, Q., Mou, H., & Yi, H. (2020). Antimicrobial peptides: classification, design, application and research progress in multiple fields. *Frontiers in microbiology*, 11, 582779. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.582779>.
18. Iwano, H., Inoue, Y., Takasago, T., Kobayashi, H., Furusawa, T., Taniguchi, K., Fujiki, J., Yokota, H., Usui, M., Tanji, Y., Hagiwara, K., Higuchi, H., & Tamura, Y. (2018). Bacteriophage ΦSA012 has a broad host range against *Staphylococcus aureus* and effective lytic capacity in a mouse mastitis model. *Biology*, 7 (1), 8. <https://doi.org/10.3390/biology7010008>.
19. Jamali, H., Barkema, H. W., Jacques, M., Lavallée-Bourget, E. M., Malouin, F., Saini, V., Stryhn, H., & Dufour, S. (2018). Invited review: Incidence, risk factors, and effects of clinical mastitis recurrence in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101 (6), 4729–4746. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13730>
20. Kortright, K.E., Chan, B.K., Koff, J.L., & Turner, P.E. (2019). Phage Therapy: A renewed approach to combat antibiotic-resistant bacteria. *Cell host & microbe*, 25 (2), 219–232. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.014>.
21. Krömker, V., & Leimbach, S. (2017). Mastitis treatment – reduction in antibiotic usage in dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*. 52. 21–29. DOI: 10.1111/rda.13032

22. Kukeeva, A.A., Abdrakhmanov, T.Z., Akhmetov, A.N., Terklibaev, A.A., & Kamsaev, K.M. (2023). Development of unconventional treatments for mastitis in dairy cattle. *Open veterinary journal*, 13(2), 193–201. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2023.v13.i2.7>.
23. Kurtyak, B.M., Boyko, P.K., Boyko, O.P., Sobko, G.V., Romanovych, M.S., Pundyak, T.O., Mandygra, Yu.M., & Gutyj, B.V. (2021). Autogenous vaccines are an effective means of controlling the epizootic process of mastitis in cows. *Ukrainian Journal of Ecology*, 11 (3), 145–152. DOI: 10.15421/2021_157.
24. Leitner, G., Zilberman, D., Papiro, E., & Shefy, S. (2018). Assessment of acoustic pulse therapy (APT), a non-antibiotic treatment for dairy cows with clinical and subclinical mastitis. *PloS one*, 13(7), e0199195. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199195>.
25. Lopes, T.S., Fontoura, P.S., Oliveira, A., Rizzo, F.A., Silveira, S., & Streck, A.F. (2020). Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. *Research in veterinary science*, 131, 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.025>.
26. Luo, S., Wang, Y., Kang, X., Liu, P., & Wang, G. (2022). Research progress on the association between mastitis and gastrointestinal microbes in dairy cows and the effect of probiotics. *Microbial pathogenesis*, 173 (Pt A), 105809. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105809>.
27. Morales-Ubaldo, A.L., Rivero-Perez, N., Valladares-Carranza, B., Velázquez-Ordoñez, V., Delgadillo-Ruiz, L., & Zaragoza-Bastida, A. (2023). Bovine mastitis, a worldwide impact disease: Prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative approaches. *Veterinary and animal science*, 21, 100306. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2023.100306>.
28. Paladiychuk, O.R. (2021). The preventive measures of mastitis in cows during the dry period. *Colloquium-journal (Veterinary sciences)*. Vol. 90, 9–15.
29. Reidel, I.G., Camussone, C., Suarez Archilla, G.A., Calvino, L.F., & Veaute, C. (2019). Liposomal and CpG-ODN formulation elicits strong humoral immune responses to recombinant *Staphylococcus aureus* antigens in heifer calves. *Veterinary immunology and immunopathology*, 212, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2019.04.011>.
30. Ricciotti, E., & FitzGerald, G.A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 31 (5), 986–1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>.
31. Shrestha, B., Neupane, R., & Paudyal, S. Non-antibiotic management of mastitis in dairy cattle. Texas A&M AgriLife Organic: URL: <https://agrilifeorganic.org/2024/03/16/non-antibiotic-management-of-mastitis-in-dairy-cattle/>.
32. Sperandio, F.F., Huang, Y.Y., & Hamblin, M.R. (2013). Antimicrobial photodynamic therapy to kill Gram-negative bacteria. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, 8 (2), 108–120. <https://doi.org/10.2174/1574891x113089990012>.
33. Sudipa Maity & Kiran Ambatipudi (2021). Response to Comments on “Mammary microbial dysbiosis leads to the zoonosis of bovine mastitis: a One-Health perspective” by Maity and Ambatipudi, *FEMS Microbiology Ecology*, Volume 97, Issue 8, August, fiab079, <https://doi.org/10.1093/femsec/fiab079>.
34. Suprovych, T., Stroianovska, L., Vishchur, O., Havryliak, V., Vasylyuk, S., Masyuk, M., Solovodzinska, I., & Lubenets V. (2023). Influence of liposomal thiosulfonate drug on the blood parameters of cows suffering catarrhal mastitis. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 14(2), 195–202. DOI: 10.15421/022329.
35. Susar, H., Çelebi, M., Çelebi, Ç., Çoban, Ö., Şen H., & Karahan İ. (2023). The preparation of liposomal formulations of gentamicin and ceftiofur used in veterinary medicine. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 12 (3), 554–559. <https://doi.org/10.53424/balikesirsbd.1262051>.
36. Trimboli, F., Ragusa, M., Piras, C., Lopreiato, V., & Britti, D. (2020). Outcomes from Experimental Testing of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug (NSAID) Administration during the Transition Period of Dairy Cows. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10 (10), 1832. <https://doi.org/10.3390/ani10101832>.
37. World Health Organization. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Geneva: WHO (2015).
38. Yin, B., Li, W., Qin, H., Yun, J., & Sun, X. (2021). The use of chinese skullcap (*Scutellaria baicalensis*) and its extracts for sustainable animal production. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11 (4), 1039. <https://doi.org/10.3390/ani11041039>.