



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268>
УДК 619:618.19-002:636.2:637.12.04/.07:615.015.8

Влияние композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока

М. Н. Исакова, Я. Ю. Лысова

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия

РЕЗЮМЕ

В связи с растущей угрозой развития антибиотикорезистентности поиск и разработка новых средств для лечения инфекционных заболеваний молочной железы высокопродуктивных коров является актуальной задачей. В статье представлены данные по изучению состава микробиоты секрета молочной железы высокопродуктивных коров при скрытой форме мастита. Из 70 проб секрета молочной железы было выделено 144 изолята микроорганизмов, наибольшее количество приходилось на *Staphylococcus aureus* и *Streptococcus dysgalactiae* (22,2 и 16,0% соответственно). Исследованиями установлено, что у максимального количества изолятов *Staphylococcus aureus* (53,1%) наблюдали устойчивость к цефалоспорином I поколения. Выделенные штаммы *Streptococcus dysgalactiae* в 52,6% случаев проявили устойчивость к препаратам группы тетрациклинов; 33,3% изолятов *Staphylococcus haemolyticus* были резистентны к препаратам группы макролидов. Устойчивостью к препаратам групп пенициллинов обладали 42,1; 35,3 и 62,5% изолятов *Enterococcus faecium*, *Aerococcus viridans* и бактерий группы кишечной палочки соответственно. В 38,5% случаев установлена резистентность к препаратам группы тетрациклинов у изолятов *Staphylococcus epidermidis*. Изоляты *Corynebacterium pseudotuberculosis* проявили устойчивость к антимикробным препаратам групп пенициллинов и тетрациклинов в равной степени (20,0%). Полученные данные показали наличие полирезистентных штаммов бактерий группы кишечной палочки, *Streptococcus dysgalactiae*, *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus aureus*. Экспериментальные исследования по изучению влияния разработанной фармацевтической композиции, содержащей бактериоцин низин, на состав микробиоты молока при лечении коров с субклиническим маститом выполнены на 35 высокопродуктивных коровах. Проведенное на 14-й день с начала курса лечения микробиологическое исследование секрета молочной железы коров показало, что число проб с отсутствием микрофлоры увеличилось до 88,6%, при этом количество колониеобразующих единиц, равное 10^3 КОЕ/мл, установлено у 1,4% изолятов *Staphylococcus aureus*. Выделенные в $1,4$ (10^1 КОЕ/мл) и 2,7% (10^2 КОЕ/мл) случаев бактерии группы кишечной палочки и *Staphylococcus aureus* соответственно не являлись этиологически значимыми в диагностическом титре.

Ключевые слова: коровы, субклинический мастит, антибиотикорезистентность, антимикробные препараты, схема лечения, бактериоцин низин, микробиота молока, колониеобразующие единицы

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 22-76-00009, <https://rscf.ru/project/22-76-00009>).

Для цитирования: Исакова М. Н., Лысова Я. Ю. Влияние композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 261–268. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Исакова Мария Николаевна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник отдела репродуктивной биологии и неонатологии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия, tmarya105@yandex.ru

The effect of the nisin-based pharmaceutical formulation used in the treatment plan for cows with subclinical mastitis on the milk microbiota

Mariya N. Isakova, Yana Yu. Lysova

Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia

ABSTRACT

Due to the growing threat of antimicrobial resistance, the search and development of new drugs to treat infectious mammary gland diseases of high yielding cows is an urgent task. The paper presents data on the microbiota composition of milk from high yielding cows suffering from subclinical mastitis; 144 microbial isolates were recovered from 70 milk samples; with the highest number of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus dysgalactiae* detected (22.2 and 16.0%, respectively). The study showed that a significant number of *Staphylococcus aureus* isolates (53.1%) were resistant to I generation cephalosporins; 52.6% of the isolated *Streptococcus dysgalactiae* strains showed resistance to tetracyclines; 33.3% of *Staphylococcus haemolyticus* isolates were resistant to macrolides. 42.1; 35.3 and 62.5% of *Enterococcus faecium*, *Aerococcus viridans* and coliform bacteria isolates, respectively, were resistant to penicillins. 38.5% of *Staphylococcus epidermidis* isolates

© Исакова М. Н., Лысова Я. Ю., 2024

© ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024

were found to be resistant to tetracyclines. *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates showed equal resistance to penicillin and tetracycline antimicrobials (20.0%). The research revealed presence of multi-drug resistant coliform bacteria, *Streptococcus dysgalactiae*, *Aerococcus viridans*, *Staphylococcus aureus* strains. Experiments to study the effect of the new nisin-based pharmaceutical formulation on microbiota of milk from cows with subclinical mastitis were carried out using 35 high yielding cows. A microbiological testing of cow milk on day 14 from the beginning of the treatment showed that the number of microbiota-free samples increased to 88.6%, while in 1.4% of cases *Staphylococcus aureus* isolates were recovered (10^3 CFU/mL). The titers of coliform and *Staphylococcus aureus* bacteria isolated in 1.4% (10^1 CFU/mL) and 2.7% (10^2 CFU/mL) of cases, respectively, were not etiologically significant.

Keywords: cows, subclinical mastitis, antimicrobial resistance, antimicrobials, treatment regimen, bacteriocin nisin, milk microbiota, colony-forming units

Acknowledgements: This work has been supported by the grants the Russian Science Foundation (project No. 22-76-00009, <https://rscf.ru/project/22-76-00009>).

For citation: Isakova M. N., Lysova Ya. Yu. The effect of the nisin-based pharmaceutical formulation used in the treatment plan for cows with subclinical mastitis on the milk microbiota. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 261–268. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Mariya N. Isakova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia, tmarya105@yandex.ru

ВВЕДЕНИЕ

Воспаление, протекающее в молочной железе коров, чаще всего вызвано бактериальной инфекцией [1, 2, 3]. Количество обнаруживаемых бактерий зависит от формы мастита и его стадии, а также от вида патогенов [4, 5, 6, 7]. В наибольшем количестве из секрета молочной железы коров при мастите выделяют микроорганизмы, относящиеся к следующим видам: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* [1, 2, 3, 4]. Главную опасность для молочного животноводства представляет субклиническая форма мастита, которую труднее диагностировать из-за отсутствия видимых изменений в молочной железе и молоке, однако при этом в молоке уже определяется более высокое содержание соматических клеток и повышенная бактериальная обсемененность. В полученном молоке от коров, больных субклинической формой мастита, происходит накопление метаболитов и токсинов микробных клеток, что приводит к ухудшению вкуса, снижению питательной ценности сырого молока и изготавливаемых из него продуктов, способствует значительному сокращению их срока хранения [8, 9, 10, 11]. Заболеваемость коров субклиническим маститом имеет широкое распространение в высокопродуктивных стадах в развивающихся странах [12, 13, 14, 15, 16], в результате чего для уменьшения выбраковки молока и предотвращения развития антибиотикорезистентности в схемах лечения стараются минимизировать применение антимикробных препаратов, используя подходы, включающие использование вакцин, бактериофагов, фаговых лизинов, бактериоцинов [17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24]. В соответствии со «Стратегией предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 г.», утвержденной распоряжением Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р, нами были проведены исследования по разработке препаратов на основе противомикробных пептидов микробного происхождения для лечения инфекционных заболеваний молочной железы высокопродуктивных коров.

Актуальность работы заключается в использовании композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом в качестве альтернативы известным антимикробным препаратам.

Новизна работы: впервые получены данные о влиянии новой композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока.

Практическая значимость: с целью сдерживания развития антибиотикорезистентности применение композиции на основе бактериоцина низина дает возможность снизить использование антимикробных препаратов при лечении мастита.

Цель настоящего исследования заключалась в оценке влияния композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока. Для этого были поставлены следующие задачи: определить состав микробиоты секрета молочной железы высокопродуктивных коров при субклиническом мастите; провести анализ сравнительной характеристики антибиотикорезистентности изолятов микроорганизмов, выделенных из секрета молочной железы больных субклиническим маститом коров; провести исследования по изучению влияния композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на состав микробиоты молока.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объекты исследования: высокопродуктивные коровы с субклинической формой мастита, изоляты микроорганизмов, выделенные из секрета молочной железы коров, композиция на основе бактериоцина низина.

Экспериментальные исследования по изучению влияния композиции на основе бактериоцина низина, использованной в схеме лечения коров с субклиническим маститом, на состав микробиоты молока выполнены на 35 высокопродуктивных коровах с удоем более 8000 кг, содержащихся на базе племенного репродуктора, расположенного в Полевском районе Свердловской области. Животным в схеме лечения субклинической формы мастита ежедневно в течение пяти дней внутрицистернально в пораженную долю вводили разработанную фармацевтическую композицию в дозе 10 мл.

Все процедуры, выполненные с участием животных, соответствовали этическим стандартам, принятым Европейской конвенцией ETS № 123.

В ходе исследования в течение 2023 г. были получены изоляты: *Staphylococcus aureus* ($n = 32$), *Streptococcus dysgalactiae* ($n = 23$), *Staphylococcus haemolyticus* ($n = 20$), *Enterococcus faecium* ($n = 19$), *Aerococcus viridans* ($n = 17$), *Staphylococcus epidermidis* ($n = 13$), бактерий группы кишечной палочки (БГКП), представленных родами *Escherichia* и *Enterobacter* ($n = 8$), *Corynebacterium pseudotuberculosis* ($n = 5$), грибов рода *Mucor* ($n = 4$) и *Penicillium* spp. ($n = 3$).

В эксперименте использовали ранее разработанную композицию, содержащую бактериоцин низин и вспомогательные вещества на водной основе, при следующем соотношении компонентов (мас. %): низин А – 0,3; глицеролаты кремния в 6-мольном избытке глицерина $\text{Si}(\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2)_4 \times 6\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2$ – 3,0; бисглицеролаты бора $\text{H}[\text{B}(\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2)_2]_2$ – 2,0; глицерин – 10,0; дистиллированная вода – до 100 [25, 26].

Методы исследования. Идентификацию выделенных изолятов проводили путем пересева на среды Гисса с сахарами («пестрый ряд»), руководствуясь определителем бактерий Берджи [27], определителем патогенных и условно-патогенных грибов [28], и с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии (временноразлетная матрично-ассоциированная лазерная десорбционная/ионизационная масс-спектрометрия) на приборе VITEK® MS (bioMérieux, Франция). При проведении бактериологического и микологического исследования из проб секрета молочной железы коров делали посевы на жидкие и плотные агаризованные питательные среды: мясо-пептонный бульон, бульон для выделения стрептококков, Энтероккоккагар, среду Эндо, среду № 10 (для идентификации *S. aureus*), среду Чапека, среду Сабуро, висмут-сульфит агар, цетримидный агар, среду Левина, среду Плоскирева (ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия), 5%-й агар с кровью барана (основа – Колумбийский агар; Bio-Rad, Франция), кровь барана дефибрированную (E&O Laboratories Ltd., Шотландия), желточно-солевой агар (питательный агар для культивирования микроорганизмов ГРМ-агар, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Россия), хромогенный агар UriSelect4 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США) и агар Сабуро с 2% глюкозы и хлорамфениколом (SIFIN diagnostics GmbH, Германия).

Резистентность выделенных изолятов к 34 антимикробным препаратам из 15 групп (тетрациклины, пенициллины, карбапенемы, макролиды, линкозамиды, ансамицины, амфениколы, аминогликозиды I, II, III поколения, цефалоспорины I, II, III поколения, фторхинолоны II, III поколения) определяли диско-диффузионным методом [29]. В работе использовали стандартные коммерческие диски (ООО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», Россия). Интерпретацию результатов проводили с учетом рекомендаций European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

Статистическую обработку данных проводили с использованием платформы AMRcloud, пакетов анализа Microsoft Excel 2007, Statistica 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования проводили на протяжении 2023–2024 гг. в отделе репродуктивной биологии и неонатологии, лаборатории микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования

Уральского НИВИ – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, в лаборатории медицинского центра ООО «Кволити Мед» (г. Екатеринбург) при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-76-00009.

Согласно результатам проведенных исследований, из 70 проб секрета молочной железы от больных субклиническим маститом коров выделили 144 изолята микроорганизмов, среди них (рис. 1): *S. aureus* (22,2%), *S. dysgalactiae* (16,0%), *S. haemolyticus* (13,9%), *E. faecium* (13,2%), *A. viridans* (11,8%), *S. epidermidis* (9,0%), БГКП, представленные родами *Escherichia* и *Enterobacter* (5,6%), *C. pseudotuberculosis* (3,5%), а также грибы рода *Mucor* (2,8%) и *Penicillium* spp. (2,1%).

В настоящем исследовании 81,4% случаев субклинического мастита у коров протекало в виде коинфекции, из них 21,4% вызваны двумя возбудителями, в 28,6 и 17,1% случаев высевали три и четыре патогена. Сложный микробиом, состоящий из пяти микроорганизмов, выделяли в 14,3% проб.

Доля изолятов *S. aureus*, резистентных к цефалоспорином I, II и III поколений, составила 53,1; 46,8 и 37,5% соответственно; к антибиотикам группы макролидов (эритромицину, кларитромицину) – 34,4%. Устойчивость к тетрациклинам и пенициллинам выявили у 31,3 и 28,1% изолятов соответственно. Минимальный процент резистентных штаммов *S. aureus* зарегистрировали в отношении следующих групп антибиотиков: фторхинолоны II поколения (12,5%), фторхинолоны III поколения (9,4%), карбапенемы (6,3%). Промежточную резистентность у 25,0% изолятов установили в отношении амикацина – антимикробного препарата группы аминогликозидов III поколения.

Выделенные штаммы *S. dysgalactiae* в 52,6% случаев проявили устойчивость к препаратам группы тетрациклинов (тигеклину, доксициклину). Нечувствительность к группе цефалоспоринов III поколения установили у 42,1% изолятов. Сравнительно меньшую резистентность зарегистрировали в отношении аминогликозидов II поколения (31,6%). Промежточную устойчивость 57,9% изолятов *S. dysgalactiae* проявляли в отношении антибиотиков групп цефалоспоринов II поколения (цефуроксиму, цефокситину).

Мониторинг антибиотикорезистентности изолятов *S. haemolyticus*, выделенных из секрета молочной железы, показал в 33,3% случаев наличие резистентности к препаратам группы макролидов (эритромицину, кларитромицину). В минимальном количестве изоляты

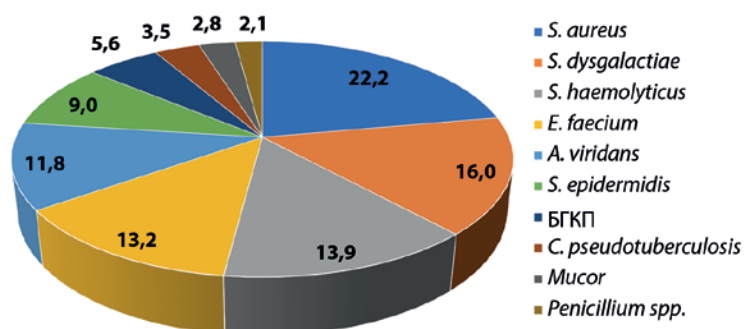


Рис. 1. Состав микробиоты секрета молочной железы коров при субклинической форме мастита ($n = 144$)

Fig. 1. Composition of the milk microbiota from cows with subclinical mastitis ($n = 144$)

проявляли устойчивость к группе цефалоспоринов III поколения (цефиксиму, цефоперазону, цефтриаксону) и ансамицинам (рифампицину) – 13,3 и 6,7% соответственно. Промежуточную чувствительность выявили к препаратам группы тетрациклинов (доксциклину) у 6,7% изолятов.

Резистентность изолятов *E. faecium* наблюдали к противомикробным препаратам групп пенициллинов, аминогликозидов I поколения и цефалоспоринов III поколения (42,1; 36,8 и 26,3% соответственно). Промежуточную чувствительность установили в отношении доксицилина (группа тетрациклинов) у 21,1% выделенных изолятов.

Профиль антибиотикорезистентности изолятов *A. viridans*, выделенных из секрета молочной железы, характеризовался наибольшей устойчивостью к препаратам групп пенициллинов (ампициллину, амоксициллину, пенициллину) – 35,3% и аминогликозидов I поколения (канамицину) – 23,5%. Промежуточную чувствительность выявили у 29,4% исследованных изолятов к группе тетрациклинов (тетрациклину, доксициклину).

Таблица 1
Структура популяции микроорганизмов, выделенных из секрета молочной железы коров с субклинической формой мастита на фоне применения новой композиции на основе бактериоцина низина (n = 35)

Table 1
The structure of the microorganism population isolated from milk of cows with subclinical mastitis after using the new nisin-based formulation (n = 35)

Наименование микроорганизма	Начало эксперимента		После курса лечения (5-й день)		На 14-й день (с начала курса лечения)	
	n	%	n	%	n	%
Монокультуры микроорганизмов						
<i>S. aureus</i>	8	22,9	4	11,4	3	8,6
<i>S. dysgalactiae</i>	4	11,4	2	5,7	–	–
<i>A. viridans</i>	2	5,7	1	2,9	–	–
<i>S. epidermidis</i>	1	2,9	–	–	–	–
<i>C. pseudotuberculosis</i>	1	2,9	–	–	–	–
<i>S. haemolyticus</i>	1	2,9	–	–	–	–
БГКП	–	–	–	–	1	2,9
Ассоциации микроорганизмов						
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>E. faecium</i>	4	11,4	2	5,7	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>Penicillium</i> spp.	3	8,6	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>E. faecium</i>	3	8,6	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Mucor</i>	2	5,7	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>Mucor</i>	2	5,7	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>E. faecalis</i> + <i>Mucor</i>	2	5,7	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП + <i>E. faecium</i> + <i>Streptococcus</i> spp.	1	2,9	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus</i> spp. + <i>Mucor</i>	1	2,9	–	–	–	–
<i>S. aureus</i> + БГКП	–	–	1	2,9	–	–
<i>E. faecalis</i> + БГКП	–	–	1	2,9	–	–
Всего	35	100	11	31,4	4	11,4

Изоляты *S. epidermidis* в 38,5% случаев проявляли резистентность к препаратам группы тетрациклинов (тетрациклину, доксициклину). Минимальную устойчивость (15,4%) регистрировали к препаратам группы аминогликозидов II поколения (гентамицину). У 23,1% изолятов установили промежуточную чувствительность к фторхинолонам III поколения (левофлоксацину).

Изолированные БГКП наибольшей устойчивостью (62,5%) обладали к группе пенициллинов. Резистентность к группе ансамицинов (рифампицину) установили у 37,5% изолятов кишечной палочки. У 25,0 и 12,5% штаммов БГКП зарегистрировали промежуточную чувствительность к препаратам группы пенициллинов и цефалоспоринов II поколения (цефуроксиму, цефокситину) соответственно.

У изолятов *C. pseudotuberculosis* установили устойчивость к антимикробным препаратам групп пенициллинов и тетрациклинов в равной степени (20,0%). Промежуточную чувствительность наблюдали к цефалоспоринам II поколения (цефуроксиму) у 40,0% изолятов.

Полученные данные по антибиотикорезистентности микробиоты молочной железы коров, больных субклиническим маститом, показали наличие полирезистентных штаммов БГКП, *S. dysgalactiae*, *A. viridans*, *S. aureus*. Резистентностью к двум группам антимикробных препаратов обладали 62,5 и 47,1% изученных изолятов БГКП и *A. viridans* соответственно. Устойчивость *S. dysgalactiae* к трем группам антибиотиков установили в отношении 43,5% выделенных штаммов, к четырем группам – 26,1%. Изученные изоляты *S. aureus* в 62,5% случаев обладали резистентностью к четырем группам антимикробных препаратов, в 46,9% – к пяти группам, устойчивость более чем к шести группам антибиотиков зарегистрировали у 15,6% изолятов.

Проведенное исследование показало, что при субклинической форме мастита из секрета молочной железы высевается сложный микробиом. Установлено широкое распространение резистентности выделенной микробиоты к основным группам антибиотиков, применяемых при терапии мастита. В связи с чем в схеме лечения субклинической формы мастита применяли новую фармацевтическую композицию на основе бактериоцина низина.

В образцах секрета молочной железы коров с субклинической формой мастита перед применением композиции, содержащей бактериоцин низин, выделенная микрофлора встречалась как в монокультуре (48,6%), так и в виде ассоциации культур бактерий и грибов (51,4%). В монокультуре микрофлора была представлена *S. aureus* (22,9%), *S. dysgalactiae* (11,4%), *A. viridans* (5,7%), *S. epidermidis* (2,9%), *C. pseudotuberculosis* (2,9%), *S. haemolyticus* (2,9%).

В структуре ассоциаций культур бактерий 11,4% проб приходилось на *S. aureus* + БГКП + *E. faecium*, также трехкомпонентные ассоциации включали *S. aureus* + БГКП + *Mucor* (5,7%), *S. aureus* + *Streptococcus* spp. + *Mucor* (2,9%). При этом наиболее часто из проб секрета молочной железы высевались четырехкомпонентные ассоциации: *S. aureus* + БГКП + *Streptococcus* spp. + *Penicillium* spp. (8,6%), *S. aureus* + БГКП + *Streptococcus* spp. + *E. faecium* (8,6%), *S. aureus* + БГКП + *Streptococcus* spp. + *Mucor* (5,7%), *S. aureus* + БГКП + *E. faecium* + *Streptococcus* spp. (2,9%). Состав пятикомпонентных ассоциаций был представлен

S. aureus + БГКП + *Streptococcus* spp. + *E. faecalis* + *Mucor* (5,7%). Результаты отражены в таблице 1.

Всего из 35 проб секрета молочной железы коров на начало эксперимента было изолировано 80 культур микроорганизмов, из них 74 культуры бактерий и 6 культур грибов (рис. 2).

При этом количество микробных клеток бактерий в каждом образце отличалось. На начало эксперимента этиологическую значимость в развитии воспалительного процесса в молочной железе имели 28,4% изолятов *S. aureus*, количество колониеобразующих единиц в 1 мл исследуемой пробы (КОЕ/мл) на уровне 10^3 , 10^6 и 10^7 установлено у 9,5; 8,1 и 10,8% изолятов соответственно. Все 16 изолированных культур *Streptococcus* spp. (21,6%) обнаруживались в количестве 10^3 КОЕ/мл. У 13,5% изолятов бактерий группы кишечной палочки, которые способны вызывать мастит у животных, количество КОЕ/мл составило 10^5 . Уровень 10^3 и 10^5 КОЕ/мл установлен у 2,7 и 8,1% выделенных изолятов *E. faecium* соответственно. *S. epidermidis*, *C. pseudotuberculosis*, *S. haemolyticus* обнаруживались в количестве 10^3 КОЕ/мл в 1,4% случаев. *A. viridans* выявлялся в титре 10^2 КОЕ/мл и с начала эксперимента не являлся этиологически значимым микроорганизмом в развитии мастита у коров (табл. 2).

После курса лечения животных с субклинической формой мастита новой композицией на основе бактериоцина низина наблюдали отсутствие роста микрофлоры в 68,6% проб (табл. 1). Выделенная из 11 образцов секрета молочной железы микробиота в 20,0% случаев представляла собой монокультуру, состоящую из *S. aureus* (11,4%), *S. dysgalactiae* (5,7%), *A. viridans* (2,9%). В остальных пробах выявляли ассоциации микроорганизмов: *S. aureus* + БГКП + *E. faecium* (5,7%); *S. aureus* + БГКП (2,9%); *E. faecalis* + БГКП (2,9%). Количество микробных клеток *S. aureus* 10^3 и 10^6 КОЕ/мл наблюдали у равного количества выделенных изолятов (1,4%). В 6,8% случаев выделенный в диагностическом титре *S. aureus* не являлся этиологически значимым (10^2 КОЕ/мл), так же как и БГКП, *E. faecium*, *A. viridans*, обнаруживаемые на уровне 10^1 – 10^2 КОЕ/мл. В одной пробе *E. faecium* выявлен в количестве 10^3 КОЕ/мл, что составило 1,4% в общей структуре изолированных микроорганизмов.

Проведенное на 14-й день с начала курса лечения микробиологическое исследование секрета молочной железы коров показало увеличение количества проб с отсутствием микрофлоры до 88,6%. В исследованных образцах микрофлора секрета молочной железы коров была представлена в виде монокультуры микроорганизмов, при этом на *S. aureus* и БГКП приходилось 8,6 и 2,8% соответственно (табл. 1). Количество 10^3 КОЕ/мл установлено у 1,4% изолятов *S. aureus*. Выделенные в 1,4 (10^1 КОЕ/мл) и 2,7% (10^2 КОЕ/мл) случаев БГКП и *S. aureus* соответственно не являлись этиологически значимыми в диагностическом титре (табл. 2).

В последнее десятилетие активно изучается потенциал бактериоцинов в качестве терапевтических средств следующего поколения против устойчивых к лекарствам бактерий [30, 31, 32, 33]. Бактериоцины молочнокислых бактерий тестируются в качестве средств борьбы с бактериальными и вирусными инфекциями; показана их способность ингибировать синтез биопленки [33, 34, 35]. В ряде экспериментов установлена высокая антимикробная активность бактериоцина низина в отноше-

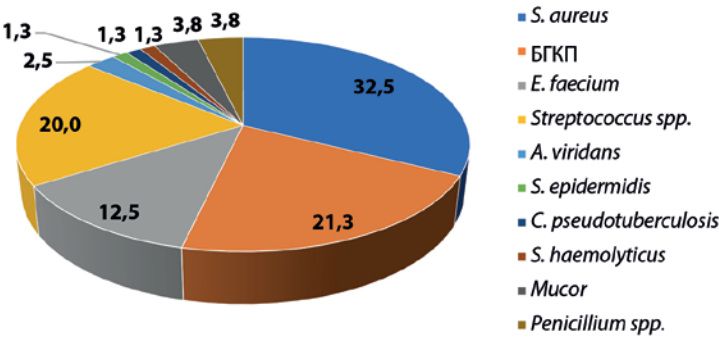


Рис. 2. Структура популяции микроорганизмов, изолированных из проб секрета молочной железы коров при субклинической форме мастита на начало эксперимента (n = 80)

Fig. 2. The structure of microbial population isolated from milk samples from cows with subclinical mastitis at the beginning of the experiment (n = 80)

Таблица 2
Численность бактерий, изолированных из проб секрета молочной железы коров (n = 74)

Наименование бактерии	КОЕ/мл	Начало эксперимента		После курса лечения (5-й день)		На 14-й день (с начала курса лечения)	
		n	%	n	%	n	%
<i>S. aureus</i>	10^2	5	6,8	5	6,8	2	2,7
	10^3	7	9,5	1	1,4	1	1,4
	10^6	6	8,1	1	1,4	–	–
	10^7	8	10,8	–	–	–	–
БГКП	10^1	3	4,1	2	2,7	1	1,4
	10^2	4	5,4	1	1,4	–	–
	10^5	10	13,5	–	–	–	–
<i>E. faecium</i>	10^2	2	2,7	2	2,7	–	–
	10^3	2	2,7	1	1,4	–	–
	10^5	6	8,1	–	–	–	–
<i>Streptococcus</i> spp.	10^3	16	21,6	2	2,7	–	–
<i>A. viridans</i>	10^2	2	2,7	1	1,4	–	–
<i>S. epidermidis</i>	10^3	1	1,4	–	–	–	–
<i>C. pseudotuberculosis</i>	10^3	1	1,4	–	–	–	–
<i>S. haemolyticus</i>	10^3	1	1,4	–	–	–	–

нии нескольких видов стафилококков, включая *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus* [36, 37, 38], в том числе метициллинрезистентного *S. aureus* со множественной устойчивостью к антибиотикам [39]. Имеются исследования в отношении клинических изолятов *S. agalactiae*, которые продемонстрировали их чувствительность к низину на разном уровне [40]. В работе М. Pérez-Ibarreche et al. [41] описаны результаты использования низина для эффективного снижения образования биопленок у штаммов *Streptococcus uberis*, вызывающих мастит у коров. Применение бактериоцина низина, обладающего противомикробной активностью в отношении основных возбудителей мастита, открывает возможности для его использования в качестве альтернативы антибиотикам [36, 42, 43]. Данные наших исследований подтверждают вышеописанные выводы

о целесообразности включения низина в схемы лечения мастита. В ходе эксперимента установлено, что выделенные из секрета молочной железы возбудители мастита, такие как *S. aureus*, БГКП, *E. faecium*, *Streptococcus* spp., *A. viridans*, *S. epidermidis*, *C. pseudotuberculosis*, *S. haemolyticus*, обладают чувствительностью к композиции на основе бактериоцина низина. С момента открытия бактериоцинов исследователи в основном сосредоточились на определении их антимикробной активности *in vitro*. Однако для применения бактериоцинов в качестве противомикробных препаратов необходимо изучить их клиническую эффективность [44]. Полученные нами результаты на высокопродуктивных коровах за счет влияния композиции на основе бактериоцина низина на микробиоту молока показали эффективность использования ее в схеме лечения субклинического мастита: так, в 88,6% проб наблюдали отсутствие роста микрофлоры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования определен состав микробиоты секрета молочной железы высокопродуктивных коров при субклиническом мастите. Установлено, что в 81,4% случаев заболевание протекает как коинфекция, из них в 21,4 и 28,6% случаев выделяли два и три патогена соответственно. Наиболее часто изолировали *S. aureus* (22,2%) и *S. dysgalactiae* (16,0%).

Проведенный сравнительный анализ антибиотикорезистентности изолятов микроорганизмов, выделенных из секрета молочной железы коров, больных скрытой формой мастита, показал наличие полирезистентных штаммов бактерий группы кишечной палочки, *S. dysgalactiae*, *A. viridans*, *S. aureus*. Резистентностью к двум группам антимикробных препаратов обладали 62,5 и 47,1% изученных изолятов БГКП и *A. viridans* соответственно. Устойчивость *S. dysgalactiae* к трем группам антибиотиков установили в отношении 43,5% выделенных штаммов, к четырем группам – 26,1%. Изученные изоляты *S. aureus* в 62,5% случаев обладали резистентностью к четырем группам антимикробных препаратов, в 46,9% – к пяти группам, устойчивость к шести и более группам антибиотиков зарегистрировали у 15,6% изолятов.

В ходе исследования влияния композиции на основе бактериоцина низина на микробиоту молока при лечении коров с субклиническим маститом наблюдали увеличение количества проб с отсутствием микрофлоры до 88,6%. Микробиота секрета молочной железы коров в 8,6% случаев была представлена *S. aureus*, 2,8% приходилось на бактерии группы кишечной палочки. При этом в 1,4 и 2,7% проб БГКП и *S. aureus* выявляли в диагностических титрах 10^1 и 10^2 КОЕ/мл соответственно, поэтому не являлись этиологически значимыми микроорганизмами в развитии мастита у коров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фурсова К. К., Соколов С. Л., Щанникова М. П., Никанова Д. А., Артемьева О. А., Колодина Е. Н. и др. Изменение микробиоты молока коров при заболевании маститом. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2021; 497 (1): 169–174. <https://doi.org/10.31857/S2686738921020086>
2. Фирсов Г. М., Фоменко С. А., Резяпкина Е. А., Нистратова М. В., Фирсова Ю. Г. Микробиология молока и молочных продуктов. *News of Science and Education*. 2018; 10 (2): 103–105. <https://www.elibrary.ru/ucjsxz>
3. Акназаров Б. К., Матиев А. А., Абдыманал У. Н., Кызайбекова С. А., Борбиев Б. И., Айтпек У. И. Микробная обсемененность молочной же-

лезы у коров, больных маститом. *Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К. И. Скрябина*. 2023; (2): 84–91. <https://www.elibrary.ru/elymnn>

4. Писаренко Н., Белугин Н., Скрипкин В., Федота Н. Ветеринарно-санитарная оценка молока при субклиническом мастите. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2016; (5): 46–50. <https://www.elibrary.ru/yxfpoh>
5. Oikonomou G., Bicalho M. L., Meira E., Rossi R. E., Foditsch C., Machado V. S., et al. Microbiota of cow's milk; distinguishing healthy, sub-clinically and clinically diseased quarters. *PLoS ONE*. 2014; 9 (1): e85904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085904>
6. Gonçalves J. L., Kamphuis C., Vernooij H., Araújo J. P. Jr., Grenfell R. C., Juliano L., et al. Pathogen effects on milk yield and composition in chronic subclinical mastitis in dairy cows. *The Veterinary Journal*. 2020; 262: 105473. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2020.105473>
7. Malek dos Reis C. B., Barreiro J. R., Mestieri L., Porcionato M. A., dos Santos M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *BMC Veterinary Research*. 2013; 9:67. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-67>
8. Pang M., Xie X., Bao H., Sun L., He T., Zhao H., et al. Insights into the bovine milk microbiota in dairy farms with different incidence rates of subclinical mastitis. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:2379. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02379>
9. Catozzi C., Sanchez Bonastre A., Francino O., Lecchi C., De Carlo E., Vecchio D., et al. The microbiota of water buffalo milk during mastitis. *PLoS ONE*. 2017; 12 (9): e0184710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184710>
10. Kaczorowski Ł., Powierska-Czarny J., Wolko Ł., Piotrowska-Cyplik A., Cyplik P., Czarny J. The influence of bacteria causing subclinical mastitis on the structure of the cow's milk microbiome. *Molecules*. 2022; 27 (6): 1829. <https://doi.org/10.3390/molecules27061829>
11. Burakova I., Gryaznova M., Smirnova Y., Morozova P., Mikhalev V., Zimnikov V., et al. Association of milk microbiome with bovine mastitis before and after antibiotic therapy. *Veterinary World*. 2023; 16 (12): 2389–2402. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.2389-2402>
12. Пигарева Г. П. Распространение маститов у коров в условиях ООО «Дон» Хохольского района Воронежской области. *Теория и практика инновационных технологий в АПК: материалы национальной научно-практической конференции (Воронеж, 1 марта – 28 апреля 2023 г.)*. Ч. 1. Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ; 2023; 62–65. <https://www.elibrary.ru/vkugzz>
13. Цапенкова А. М., Высоцкая Н. В. Распространение и причины возникновения клинического и субклинического мастита у коров во Владимирской области. *Аграрная наука в условиях модернизации и инновационного развития АПК России: сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции (Иваново, 29–30 ноября 2021 г.)*. Том 1. Иваново: ФГБОУ ВО Ивановская ГСХА; 2021; 203–206. <https://www.elibrary.ru/qynlxb>
14. Abed A. H., Menshawy A. M. S., Zeinoh M. M. A., Hossain D., Khalifa E., Wareh G., Awad M. F. Subclinical mastitis in selected bovine dairy herds in North Upper Egypt: Assessment of prevalence, causative bacterial pathogens, antimicrobial resistance and virulence-associated genes. *Microorganisms*. 2021; 9 (6): 1175. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061175>
15. Ndahetuye J. B., Persson Y., Nyman A. K., Tukei M., Ongol M. P., Båge R. Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda. *Tropical Animal Health and Production*. 2019; 51 (7): 2037–2044. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01905-2>
16. Bari M. S., Rahman M. M., Persson Y., Derks M., Sayeed M. A., Hossain D., et al. Subclinical mastitis in dairy cows in south-Asian countries: a review of risk factors and etiology to prioritize control measures. *Veterinary Research Communications*. 2022; 46 (3): 621–640. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09948-x>
17. Rainard P., Gilbert F. B., Martins R. P., Germon P., Foucras G. Progress towards the elusive mastitis vaccines. *Vaccines*. 2022; 10 (2): 296. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020296>
18. Erskine R. J. Vaccination strategies for mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2012; 28 (2): 257–270. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.002>
19. Rainard P., Gilbert F. B., Germon P., Foucras G. Invited review: a critical appraisal of mastitis vaccines for dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2021; 104 (10): 10427–10448. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20434>
20. Schmelcher M., Powell A. M., Becker S. C., Camp M. J., Donovan D. M. Chimeric phage lysins act synergistically with lysostaphin to kill mastitis-causing *Staphylococcus aureus* in murine mammary glands. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012; 78 (7): 2297–2305. <https://doi.org/10.1128/AEM.07050-11>
21. Zduńczyk S., Janowski T. Bacteriophages and associated endolysins in therapy and prevention of mastitis and metritis in cows: current knowledge. *Animal Reproduction Science*. 2020; 218: 106504. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106504>

22. Touza-Otero L., Landin M., Diaz-Rodriguez P. Fighting antibiotic resistance in the local management of bovine mastitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024; 170:115967. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115967>
23. Raheel I., Mohammed A. N., Mohamed A. A. The efficacy of bacteriocins against biofilm-producing bacteria causing bovine mastitis in dairy farms: a new strategy. *Current Microbiology*. 2023; 80 (7):229. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-0324-x>
24. Иванов Е. В., Капустин А. В., Лаишевцев А. И., Супова А. В., Алипер Т. И., Верховский О. А. Эффективность вакцины Комбовак-Эндомаст в борьбе с инфекционными маститами и эндометритами коров. *Ветеринария*. 2023; (11): 10–13. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.7.43-49>
25. Исакова М. Н., Лысова Я. Ю., Хонина Т. Г. Разработка новых лекарственных композиций на основе бактериоцина-лизина, с последующей оценкой их антимикробной активности. *Ветеринария*. 2023; (7): 43–49. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.7.43-49>
26. Исакова М. Н., Белоусов А. И., Дроздова Л. И. Морфофункциональные изменения в органах экспериментальных животных при применении фармацевтических композиций на основе лизина. *Аграрный вестник Урала*. 2023; (8): 48–58. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2023-237-08-48-58>
27. Определитель бактерий Берджи: в 2-х томах. Под ред. Дж. Хоупта. Том 1. 9-е изд. М.: Мир; 1997. 429 с.
28. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. Под ред. И. Р. Дорожкой. М.: Мир; 2001. 468 с.
29. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания МУК 4.2.1890-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России; 2004. 91 с.
30. Gradisteanu Pircalabioru G., Popa L. I., Marutescu L., Gheorghe I., Popa M., Czobor Barbu I., et al. Bacteriocins in the era of antibiotic resistance: rising to the challenge. *Pharmaceutics*. 2021; 13 (2):196. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020196>
31. Flynn J., Ryan A., Hudson S. P. Synergistic antimicrobial interactions of nisin A with biopolymers and solubilising agents for oral drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2022; 171: 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.12.010>
32. Khan F., Singh P., Joshi A. S., Tabassum N., Jeong G.-J., Bamunuarachi N. I., et al. Multiple potential strategies for the application of nisin and derivatives. *Critical Reviews in Microbiology*. 2023; 49 (5): 628–657. <https://doi.org/10.1080/1040841x.2022.2112650>
33. Fernandes A., Jobby R. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential clinical applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2022; 194 (10): 4377–4399. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03870-3>
34. Heinzinger L. R., Pugh A. R., Wagner J. A., Otto M. Evaluating the translational potential of bacteriocins as an alternative treatment for *Staphylococcus aureus* infections in animals and humans. *Antibiotics*. 2023; 12 (8):1256. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081256>
35. Daba G. M., Elkhateeb W. A. Ribosomally synthesized bacteriocins of lactic acid bacteria: Simplicity yet having wide potentials – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024; 256 (Pt. 1):128325. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128325>
36. Cao L. T., Wu J. Q., Xie F., Hu S. H., Mo Y. Efficacy of nisin in treatment of clinical mastitis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90 (8): 3980–3985. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0153>
37. Bennett S., Ben Said L., Lacasse P., Malouin F., Fliss I. Susceptibility to nisin, bacitracin, pedicidin and reuterin of multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* causing bovine mastitis. *Antibiotics*. 2021; 10 (11):1418. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111418>
38. Le M. N., Kawada-Matsuo M., Komatsuzawa H. Efficiency of antimicrobial peptides against multidrug-resistant staphylococcal pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2022; 13:930629. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.930629>
39. Wang J., Ma X., Li J., Shi L., Liu L., Hou X., et al. The synergistic antimicrobial effect and mechanism of nisin and oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24 (7):6697. <https://doi.org/10.3390/ijms24076697>
40. Hayes K., Field D., Hill C., O'Halloran F., Cotter L. A novel bioengineered derivative of nisin displays enhanced antimicrobial activity against clinical *Streptococcus agalactiae* isolates. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2019; 19: 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.04.010>
41. Pérez-Ibarreche M., Field D., Ross R. P., Hill C. A bioengineered nisin derivative to control *Streptococcus uberis* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. 2021; 87 (16):e0039121. <https://doi.org/10.1128/aem.00391-21>
42. Kitazaki K., Koga S., Nagatoshii K., Kuwano K., Zendo T., Nakayama J., et al. *In vitro* synergistic activities of cefazolin and nisin A against mastitis pathogens. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2017; 79 (9): 1472–1479. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0180>
43. Bennett S., Fliss I., Ben Said L., Malouin F., Lacasse P. Efficacy of bacteriocin-based formula for reducing staphylococci, streptococci, and total bacterial counts on teat skin of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2022; 105 (5): 4498–4507. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21381>
44. Guryanova S. V. Immunomodulation, bioavailability and safety of bacteriocins. *Life*. 2023; 13 (7):1521. <https://doi.org/10.3390/life13071521>

REFERENCES

1. Fursova K. K., Sokolov S. L., Shchannikova M. P., Nikanova D. A., Artem'eva O. A., Kolodina E. N., et al. Changes in the microbiome of milk in cows with mastitis. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2021; 497: 75–80. <https://doi.org/10.1134/S1607672921020046>
2. Firsov G. M., Fomenko S. A., Rezyapkina E. A., Nistratova M. V., Firsova Yu. G. Mikrobiologiya moloka i molochnykh produktov = Microbiology of milk and dairy products. *News of Science and Education*. 2018; 10 (2): 103–105. <https://www.elibrary.ru/jcjsxz> (in Russ.)
3. Aknazarov B. K., Matiev A. A., Abdymanap U. N., Kyzaibekova S. A., Borbiev B. I., Aitpek U. I. Microbial contamination of the mammary gland in cows with mastitis. *Vestnik Kyrgyzskogo natsional'nogo agrarnogo universiteta im. K. I. Skryabina*. 2023; (2): 84–91. <https://www.elibrary.ru/elymn> (in Russ.)
4. Pisarenko N. A., Belugin N. V., Skripkin V. S., Fedota N. V. Animal health appraisal of milk at a subclinical mastitis. *Veterinariya sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh*. 2016; (5): 46–50. <https://www.elibrary.ru/yxfpoh> (in Russ.)
5. Oikonomou G., Bicalho M. L., Meira E., Rossi R. E., Foditsch C., Machado V. S., et al. Microbiota of cow's milk; distinguishing healthy, sub-clinically and clinically diseased quarters. *PLoS ONE*. 2014; 9 (1):e85904. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085904>
6. Gonçalves J. L., Kamphuis C., Vernooij H., Araújo J. P. Jr., Grenfell R. C., Juliano L., et al. Pathogen effects on milk yield and composition in chronic subclinical mastitis in dairy cows. *The Veterinary Journal*. 2020; 262:105473. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2020.105473>
7. Malek dos Reis C. B., Barreiro J. R., Mestieri L., Porcionato M. A., dos Santos M. V. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *BMC Veterinary Research*. 2013; 9:67. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-67>
8. Pang M., Xie X., Bao H., Sun L., He T., Zhao H., et al. Insights into the bovine milk microbiota in dairy farms with different incidence rates of subclinical mastitis. *Frontiers in Microbiology*. 2018; 9:2379. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02379>
9. Catozzi C., Sanchez Bonastre A., Francino O., Lecchi C., De Carlo E., Vecchio D., et al. The microbiota of water buffalo milk during mastitis. *PLoS ONE*. 2017; 12 (9):e0184710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184710>
10. Kaczorowski Ł., Powierska-Czarny J., Wolko Ł., Piotrowska-Cyplik A., Cyplik P., Czarny J. The influence of bacteria causing subclinical mastitis on the structure of the cow's milk microbiome. *Molecules*. 2022; 27 (6):1829. <https://doi.org/10.3390/molecules27061829>
11. Burakova I., Gryaznova M., Smirnova Y., Morozova P., Mikhalev V., Ziminov V., et al. Association of milk microbiome with bovine mastitis before and after antibiotic therapy. *Veterinary World*. 2023; 16 (12): 2389–2402. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.2389-2402>
12. Pigareva G. P. Distribution of mastitis in cows in the conditions of LLC "Don", Khokholsky District, Voronezh Region. *Teoriya i praktika innovatsionnykh tekhnologii v APK: materialy natsional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Voronezh, 1 marta – 28 aprelya 2023 g.). Ch. 1 = Theory and practice of innovative technologies in agribusiness: proceedings of the national scientific and practical conference (Voronezh, 1 March – 28 April, 2023). Part 1. Voronezh: Voronezh SAU; 2023; 62–65. <https://www.elibrary.ru/vkugzz> (in Russ.)*
13. Tsapenkova A. M., Vysotskaya N. V. Rasprostraneniye i prichiny vozniknoveniya klinicheskogo i subklinicheskogo mastita u korov vo Vladimirskoi oblasti = Spread and causes of clinical and subclinical mastitis in the Vladimir Oblast. *Agrarnaya nauka v usloviyakh modernizatsii i innovatsionnogo razvitiya APK Rossii: sbornik materialov Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (Ivanovo, 29–30 noyabrya 2021 g.). Tom 1 = Agricultural science in the conditions of the Russian agribusiness modernization and innovative development: proceedings of the All-Russian scientific and practical conference (Ivanovo, 29–30 November, 2021). Vol 1. Ivanovo: Ivanovo SAA; 2021; 203–206. <https://www.elibrary.ru/qynlxb> (in Russ.)*
14. Abed A. H., Menshawy A. M. S., Zeinhom M. M. A., Hossain D., Khalifa E., Wareth G., Awad M. F. Subclinical mastitis in selected bovine dairy herds in North Upper Egypt: Assessment of prevalence, causative bacterial pathogens, antimicrobial resistance and virulence-associated genes. *Microorganisms*. 2021; 9 (6):1175. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061175>
15. Ndahetuye J. B., Persson Y., Nyman A. K., Tukei M., Ongol M. P., Båge R. Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda. *Tropical Animal Health and Production*. 2019; 51 (7): 2037–2044. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01905-2>
16. Bari M. S., Rahman M. M., Persson Y., Derks M., Sayeed M. A., Hosain D., et al. Subclinical mastitis in dairy cows in south-Asian countries: a review of risk factors and etiology to prioritize control measures. *Veterinary Research Communications*. 2022; 46 (3): 621–640. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09948-x>

17. Rainard P., Gilbert F. B., Martins R. P., Germon P., Foucras G. Progress towards the elusive mastitis vaccines. *Vaccines*. 2022; 10 (2):296. <https://doi.org/10.3390/vaccines10020296>
18. Erskine R. J. Vaccination strategies for mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2012; 28 (2): 257–270. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.002>
19. Rainard P., Gilbert F. B., Germon P., Foucras G. Invited review: a critical appraisal of mastitis vaccines for dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2021; 104 (10): 10427–10448. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20434>
20. Schmelcher M., Powell A. M., Becker S. C., Camp M. J., Donovan D. M. Chimeric phage lysins act synergistically with lysostaphin to kill mastitis-causing *Staphylococcus aureus* in murine mammary glands. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012; 78 (7): 2297–2305. <https://doi.org/10.1128/AEM.07050-11>
21. Zduńczyk S., Janowski T. Bacteriophages and associated endolysins in therapy and prevention of mastitis and metritis in cows: current knowledge. *Animal Reproduction Science*. 2020; 218:106504. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106504>
22. Touza-Otero L., Landin M., Diaz-Rodriguez P. Fighting antibiotic resistance in the local management of bovine mastitis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2024; 170:115967. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115967>
23. Raheel I., Mohammed A. N., Mohamed A. A. The efficacy of bacteriocins against biofilm-producing bacteria causing bovine clinical mastitis in dairy farms: a new strategy. *Current Microbiology*. 2023; 80 (7):229. <https://doi.org/10.1007/s00284-023-03324-x>
24. Ivanov E. V., Kapustin A. V., Laishevsev A. I., Supova A. V., Aliper T. I., Verkhovskiy O. A. The effectiveness of the Kombovak-Endomast vaccine in the fight against infectious mastitis and endometritis in cows. *Veterinariya*. 2023; (11): 10–13. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.11.10-13> (in Russ.)
25. Isakova M. N., Lysova Ya. Yu., Khonina T. G. Development of new medicinal compositions based on Bacteriocin-nisin, with subsequent evaluation of their antimicrobial activity. *Veterinariya*. 2023; (7): 43–49. <https://doi.org/10.30896/0042-4846.2023.26.7.43-49> (in Russ.)
26. Isakova M. N., Belousov A. I., Drozdova L. I. Morphofunctional changes in the organs of experimental animals when using pharmaceutical compositions based on nisin. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2023; (8): 48–58. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2023-237-08-48-58> (in Russ.)
27. Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T., Williams S. T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. 787 p.
28. Sutton D. A., Fothergill A. W., Rinaldi M. G. *Guide to Clinically Significant Fungi*. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. 471 p.
29. Guidelines for Susceptibility Testing of Microorganisms to Antibacterial Agents: Methodical Guidelines MUK 4.2.1890-04. Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2004. 91 p. (in Russ.)
30. Gradisteanu Pircalabioru G., Popa L. I., Marutescu L., Gheorghe I., Popa M., Czorob Barbu I., et al. Bacteriocins in the era of antibiotic resistance: rising to the challenge. *Pharmaceutics*. 2021; 13 (2):196. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13020196>
31. Flynn J., Ryan A., Hudson S. P. Synergistic antimicrobial interactions of nisin A with biopolymers and solubilising agents for oral drug delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2022; 171: 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.12.010>
32. Khan F., Singh P., Joshi A. S., Tabassum N., Jeong G.-J., Bamunuarachchi N. I., et al. Multiple potential strategies for the application of nisin and derivatives. *Critical Reviews in Microbiology*. 2023; 49 (5): 628–657. <https://doi.org/10.1080/1040841x.2022.2112650>
33. Fernandes A., Jobby R. Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential clinical applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2022; 194 (10): 4377–4399. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03870-3>
34. Heinzinger L. R., Pugh A. R., Wagner J. A., Otto M. Evaluating the translational potential of bacteriocins as an alternative treatment for *Staphylococcus aureus* infections in animals and humans. *Antibiotics*. 2023; 12 (8):1256. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12081256>
35. Daba G. M., Elkhateeb W. A. Ribosomally synthesized bacteriocins of lactic acid bacteria: Simplicity yet having wide potentials – A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024; 256 (Pt. 1):128325. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128325>
36. Cao L. T., Wu J. Q., Xie F., Hu S. H., Mo Y. Efficacy of nisin in treatment of clinical mastitis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2007; 90 (8): 3980–3985. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0153>
37. Bennett S., Ben Said L., Lacasse P., Malouin F., Fliss I. Susceptibility to nisin, bacitracin, pediocin and reuterin of multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* and *Streptococcus uberis* causing bovine mastitis. *Antibiotics*. 2021; 10 (11):1418. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10111418>
38. Le M. N., Kawada-Matsuo M., Komatsuzawa H. Efficiency of antimicrobial peptides against multidrug-resistant staphylococcal pathogens. *Frontiers in Microbiology*. 2022; 13:930629. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.930629>
39. Wang J., Ma X., Li J., Shi L., Liu L., Hou X., et al. The synergistic antimicrobial effect and mechanism of nisin and oxacillin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24 (7):6697. <https://doi.org/10.3390/ijms24076697>
40. Hayes K., Field D., Hill C., O'Halloran F., Cotter L. A novel bioengineered derivative of nisin displays enhanced antimicrobial activity against clinical *Streptococcus agalactiae* isolates. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2019; 19: 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.04.010>
41. Pérez-Ibarreche M., Field D., Ross R. P., Hill C. A bioengineered nisin derivative to control *Streptococcus uberis* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. 2021; 87 (16):e0039121. <https://doi.org/10.1128/aem.00391-21>
42. Kitazaki K., Koga S., Nagatashi K., Kuwano K., Zendo T., Nakayama J., et al. *In vitro* synergistic activities of cefazolin and nisin A against mastitis pathogens. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2017; 79 (9): 1472–1479. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0180>
43. Bennett S., Fliss I., Ben Said L., Malouin F., Lacasse P. Efficacy of bacteriocin-based formula for reducing staphylococci, streptococci, and total bacterial counts on teat skin of dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2022; 105 (5): 4498–4507. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21381>
44. Guryanova S. V. Immunomodulation, bioavailability and safety of bacteriocins. *Life*. 2023; 13 (7):1521. <https://doi.org/10.3390/life13071521>

Поступила в редакцию / Received 01.04.2024

Поступила после рецензирования / Revised 07.05.2024

Принята к публикации / Accepted 02.07.2024

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Исакова Мария Николаевна, канд. вет. наук, старший научный сотрудник отдела репродуктивной биологии и неонатологии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7130-5627>, tmarya105@yandex.ru

Лысова Яна Юрьевна, заведующий лабораторией микробиологических и молекулярно-генетических методов исследования отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией, старший научный сотрудник ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6797-0659>, mikroba.urnivi@mail.ru

Mariya N. Isakova, Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7130-5627>, tmarya105@yandex.ru

Yana Yu. Lysova, Head of Laboratory of Microbiological and Molecular Genetic Research, Department of Veterinary Laboratory Diagnosis with Testing Laboratory, Senior Researcher, Ural Federal Agrarian Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6797-0659>, mikroba.urnivi@mail.ru

Вклад авторов: Исакова М. Н. – сбор литературных данных по тематике исследования, отбор проб патологического материала, анализ данных, концепция представления материалов, формулирование и научное обоснование выводов, оформление ключевых результатов исследования в виде статьи; Лысова Я. Ю. – определение методов исследования, проведение лабораторных исследований, оформление ключевых результатов исследования.

Contribution: Isakova M. N. – acquisition of relevant published data; collection of samples; data analysis; data presentation, interpretation and scientific justification of the conclusions; drafting of the paper; Lysova Ya. Yu. – determination of test methods, laboratory tests, presentation of major test results.