DOI <http://dx.doi.org/10.18551/rjoas.2016-05.12>

**ИЗУЧЕНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА
БАКТЕРИОФАГОВ ПРИ ЭНДОМЕТРИТАХ У КОРОВ В УСЛОВИЯХ
МОЛОЧНО-ТОВАРНОЙ ФЕРМЫ**

**STUDYING OF PREVENTIVE EFFECTIVENESS OF BACTERIOPHAGES'
PREPARATION AT ENDOMETRITIS OF COWS IN THE CONDITIONS
OF LACTIC AND COMMODITY FARM**

Глазунов Е.А., аспирант

Glazunov E. A., Post-graduate student

Пименов Н.В.*, доктор биологических наук

Pimenov N.V., Doctor of Biological Sciences

Сотникова Л.Ф., доктор ветеринарных наук

Sotnikova L.F., Doctor of Veterinary Sciences

**ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и
биотехнологии – МВА имени К.И.Скрябина», Москва, Россия**

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Moscow State
Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K.I. Skryabin»,
Moscow, Russia

*E-mail: pimenov-nikolai@yandex.ru

АННОТАЦИЯ

Изучена возможность адаптирования и внедрения в ветеринарную практику препарата на основе бактериофагов «Фагогин» для профилактики послеродовых эндометритов у коров. Применение фагового препарата позволило повысить эффективность профилактических мероприятий при эндометритах в сравнении с традиционной схемой. Исследования позволяют внедрять в практику молочного скотоводства комплексную схему ветеринарных мероприятий, альтернативную антибиотикообработкам.

ABSTRACT

An opportunity was studied for adapting and introducing into the veterinary practice of the bacteriophage-based Fagogin medication for the prevention of cow postpartum endometritis. The use of the phage medication made it possible to increase the efficiency of the endometritis preventive services, as compared with the conventional regimen. The study enables the introduction into the dairy breeding practice of a comprehensive veterinary treatment scheme alternative to the antibiotic treatment.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Эндометриты, бактериофаги, профилактика, продукция.

KEY WORDS

Endometritis, bacteriophages, prevention, products.

В настоящее время наиболее перспективным путем повышения рентабельности скотоводства является внедрение новых технологий, позволяющих с высокой эффективностью профилактировать актуальные заболевания у коров, сохраняя и повышая качество и безопасность продукции. В условиях молочно-товарной фермы наибольшую проблему представляют заболевания молочной железы и органов репродуктивной системы у коров. Чаще всего эти заболевания связаны с нарушением зооигиенических норм содержания, несбалансированным кормлением, а также повышенной технологической нагрузкой на стадо, что приводит к снижению местной и общей резистентности животных. В свою очередь снижение резистентности приводит к

развитию болезней и чаще всего в тех органах, которые контаминированы патогенной и сапрофитной микрофлорой.[3,4]

На сегодняшний день основными средствами борьбы с эндометритами остаются химиотерапевтические препараты с антибактериальным действующим веществом из разных групп. Использование данных препаратов имеет целый ряд негативных сторон, таких как образование антибиотикорезистентных штаммов, высокая стоимость, недостаточная лечебная эффективность и снижение качества продукции за счет содержания остаточных количеств антибиотиков. [5] В связи с этим растет заинтересованность сельскохозяйственных производителей в новых средствах и методах профилактики и лечения заболеваний молочного стада, обеспечивающих так называемую биологическую продукцию – «биомолоко», т.е. полученное без применения антибактериальных средств.

За последние несколько лет альтернативным средствам профилактики и лечения маститов и эндометритов стали уделять больше внимания. Однако, темпы появления противомаститных препаратов на порядок выше. В то время как получение экологически чистой продукции связано не с частичной заменой антибиотиков, а комплексным отказом от их применения для профилактических целей.

Из множества причин, вызывающих бесплодие и снижающих темпы воспроизводства животных, особое место занимают осложнения в послеродовой период все послеродовые заболевания коров рассматриваются как типичная инфекционная патология, так как основной причиной такого состояния является усиление патогенности сапрофитной микрофлоры на фоне ослабления естественной резистентности организма животных. Чаще всего развивается патология органов размножения в виде острого послеродового эндометрита. По данным Кузьмича Р.Г. послеродовой эндометрит наблюдается у 18,5-38,1% отелившихся коров, занимая ведущее место в структуре послеродовых осложнений.[3] Заболевают преимущественно животные с высоким уровнем молочной продуктивности. Мероприятия по лечению и профилактике послеродового эндометрита занимают до 80% рабочего времени ветеринарных врачей. Методы и средства лечения коров при послеродовом эндометрите имеют примерно одинаковую эффективность, которая со временем при длительном применении тех или иных фармакологических средств начинает снижаться. Применение препаратов, содержащих антибиотики, сульфаниламидные компоненты, нитрофураны, хинолоны, способствует появлению антибиотикоустойчивых микроорганизмов во внешней среде, что мешает эффективному лечению.

В связи с этим препараты и средства, предназначенные для лечения коров при послеродовом эндометрите должны постоянно совершенствоваться, обновляться, и разработка новых этиотропных методов и средств профилактики и лечения при послеродовых эндометритах у коров имеет большое практическое значение в системе мероприятий, направленных на улучшение воспроизводства.

Лекарственного вещества, универсально воздействующего на все стороны патологического процесса, в природе не существует, поэтому применение комплексных схем, включающих этиотропные, гормональные, патогенетические, иммуностимулирующие, общестимулирующие препараты – решение достаточно сложной проблемы лечения и профилактики при последовых болезнях у коров.

Наиболее эффективна при эндометрите комплексная терапия, направленная на подавление микрофлоры, стимуляцию сократительной функции матки и повышение резистентности организма и регенеративных процессов в эндометрии [1].

В связи с вышесказанным, в качестве средств подавляющих микрофлору – лизирующих микроорганизмы, участвующие в этиологии и патогенезе эндометритов, интерес представляют фаговые препараты. Их применение на ранних этапах инфекционно-воспалительного процесса и для профилактики размножения этиопатогенных микроорганизмов в половых путях коров видится нам перспективным направлением ветеринарной деятельности на молочно-товарной ферме. О

возможности применения бактериофагов для лечения и профилактики акушерско-гинекологических патологий в скотоводстве указывал Пименов Н.В. в 2009 году [6].

Препарат «Фагогин» содержит комплекс из 40 видов бактериофагов из коллекции ООО НПЦ «Микромир», подавляющих рост следующих патогенных бактерий: *Actinomyces* spp. (актиномицеты), *Bacteroides* spp. (бактероиды), *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Escherichia coli* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus* spp., *Hafnia alvei*, *Pseudomonas aeruginosa* spp., *Streptococcus* spp. По данным разных авторов, исследовавших этиологию и патогенез эндометритов, перечисленные группы бактерий в той или иной степени участвуют в развитии воспаления эндометрия, причем чаще всего как полиинфекция [1,3,4,6].

Целью работы являлось изучение профилактических свойств препарата на основе бактериофагов «Фагогин» (ООО НПЦ «Микромир») при эндометритах у коров в условиях молочно-товарной фермы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили на базе молочно-товарной фермы «Алферьево» ЗАО «Васильевское» Сергиево-Посадского района Московской области. В работе использовали 36 коров черно-пестрой породы. Для постановки диагноза на эндометрит использовали комплекс методов, в т.ч. общеклинические исследования, специальные исследования зоны патологического очага и ректальные исследования на 14-ый и 30-ый день после отела.

Изучение профилактических свойств препарата бактериофагов «Фагогин» при эндометритах проводили на коровах, свободных от антибиотиков, у которых в системе лечебно-профилактических мероприятий от маститов использовали в сухостойный период препарат «Фагодерм» вместо антибактериального «Пелтамаст». В опытной группе для проведения комплексной профилактики без использования химиотерапевтических средств задействованы 19 коров, которых в дальнейшем обработали препаратом «Фагогин» для профилактики послеродовых эндометритов. Препарат в гелевой форме вводили двукратно с интервалом 5 дней в дозе 30 мл после отделения последа, при необходимости послед отделяли оперативным методом (у 2 коров).

Для профилактики эндометритов у 19 коров в контрольной группе использовали схему, апробированную в хозяйстве, с применением антибиотиков (цефтиосан), противовоспалительных и гомеопатических средств.

В работе проводили бактериологические исследования проб патологического материала у коров при эндометритах (n=30). Бактериологические исследования по 2 пробы проводили также от больных коров в опытной и контрольной группах спустя 30 дней после проведения профилактических обработок.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В начале исследований проводили изучение бактерий, участвующих в этиологии и патогенезе эндометритов. Для этого были отобраны 30 проб патологического материала (смывов из матки и родовых путей, слизи и соскобов). При проведении расширенных бактериологических исследований (посевы на селективные и дифференциальные среды в аэробных и анаэробных условиях, изучение морфологии и свойств колоний после культивирования, биохимическая и серологическая идентификация, а также использование ПЦР-диагностика и масспектрометрии) 30-ти проб слизи от коров больных эндометритом выделены и идентифицированы микроорганизмы преимущественно из 3 семейств.

Данные по соотношению культур при идентификации представлены в таблице 1. Как видно из представленных данных, выделенная из образцов патогенная и сапрофитная, в том числе условно-патогенная, микрофлора представлена:

Staphylococcus aureus, *Acinomytes pyogenes* (*Corynebacterium pyogenes*), *Proteus vulgaris*, *Enterobacteria spp.* Особое внимание на себя обращают следующие бактерии *Staphylococcus aureus*, *Acinomytes pyogenes* (*Corynebacterium pyogenes*), *Proteus vulgaris*. Другие выделенные бактерии из семейства *Enterobacteriaceae* представлены культурами родов *Escherichia* (7%), *Klebsiella* (5%), *Alterococcus* (3%), *Citrobacter* (2%), *Enterobacter* (2%), *Hafnia* (2%), *Shigella* (1%).

Таблица 1 – Бактериальная обсемененность при эндометритах у коров в условиях молочно-товарной фермы

Выделенные микроорганизмы	<i>Stph. aureus</i>	<i>A. pyogenes</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>Enterobacteria spp.</i>	др.
Процентное соотношение культур в ЗАО «Племрепродуктор «Васильевское»	32	26	10	22	10

Препарат «Фагогин» содержит вирулентные фаги против основных выделенных бактерий, что и послужило поводом для его испытания в качестве средства профилактики послеродовых эндометритов вместо традиционно применяемых антибактериальных средств. Состав препарата представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Состав препарата «Фагогин» на основе вирулентных бактериофагов

1	<i>Staphylococcus aureus</i>	6 видов
2	<i>Gardnerella vaginalis</i>	2 вида
3	<i>Haemophilus spp.</i>	1 вид
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4 вида
5	<i>Klebsiella spp.</i>	4 вида
6	<i>Proteus spp.</i>	4 вида
7	<i>Escherichia coli</i>	4 вида
8	<i>Hafnia alvei</i>	2 вида
9	<i>Campylobacter spp.</i>	1 вид
10	<i>Actinomyces spp.</i>	1 вид
11	<i>Streptococcus spp.</i>	4 вида
12	<i>Bacteroides spp.</i>	2 вида
13	<i>Enterobacter spp.</i>	3 вида
14	<i>Prevotella spp.</i>	2 вида

Для изучения профилактической эффективности препарата «Фагогин» были сформированы две группы животных. Животным опытной группы вводили препарат «Фагогин» в дозе 30 мл двукратно с интервалом 5 дней внутриматочно, через пластиковый одноразовый катетер сразу после отела, непосредственно после отделения последа. В контрольной группе использовали комплексную схему, апробированную в хозяйстве, включавшую: нестероидные противовоспалительные – «Кетоджект» по 20 мл 3 дня внутримышечно; антибиотик группы цефалоспоринов третьего поколения – «Цефтиасан»: 10 мл 3 дня внутримышечно (выбор препарата обоснован в хозяйстве отсутствием его детекции в молоке обработанных коров); средство, усиливающее сокращение миометрия – «Утеротон» (β -адренолитик): 10 мл 3 дня внутримышечно; ветеринарные гомеопатические средства – «Лацилин», «Лиарсин»: 5 мл 1 раз в сутки 3 дня внутримышечно.

Сопоставительный анализ послеродовой патологии эндометрия проводили при ежедневной гинекологической диспансеризации животных обеих групп с проведением ректального исследования состояния органов половой системы в течение 14 дней после отела. Итоговое обследование с ректальным контролем состояния матки проводили через 30 дней после отела, где фиксировали показатели заболеваемости в группе. Результаты исследований представлены в таблице 3. Полученные в ходе исследований данные представляют особый интерес, поскольку препарат «Фагогин» применялся в продолжение профилактических обработок по маститам препаратом бактериофагов «Фагодерм» без использования других средств, в т.ч. антибиотиков.

Таблица 3 – Эффективность профилактики послеродовых эндометритов опытной и контрольной групп

Группы коров	Количество коров в группе	Количество коров с задержанием последа	Количество коров с эндометритом		Эффективность, %
			14 день	30 день	
опытная	19	6	1	2	89,5
контрольная	19	4	2	9	52,6

При контроле на 14 день после отела выявлено случаев эндометрита, 1 и 2 в опытной и контрольной группе соответственно. На 30 день после отела выявлено 2 (10,5%) в опытной и 9 (47,4%) в контрольной группе случаев возникновения клинического эндометрита. Профилактическая эффективность препарата «Фагогин» составила 89,5%, в то время как комплексная схема с применением антибактериальных средств показала эффективность на уровне 47,4%. Обратим внимание, что на 14 день после первой обработки разница в профилактической эффективности схем в обеих группах была незначительна, однако к 30 дню она достигла 42%.

После проведенного клинико-гинекологического контроля на 30 день исследований взяты 4 пробы от коров, больных эндометритом, по 2 пробы из опытной и контрольной групп. Результаты исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты бактериологического исследования проб, отобранных от больных коров, на 30 день после отела

Группа	№ пробы	Выделенные культуры
Опытная	1 (9412)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>
	2 (194)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Candida albicans</i>
Контрольная	3 (10358)	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Actinomyces pyogenes</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i>
	4 (10417)	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Raoultella terrigena</i>

Как видно из представленных данных, выделенная патогенная и сапрофитная микрофлора представлена видами: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella oxytoca*, *Raoultella terrigena*, *Streptococcus pyogenes*; также в пробах выделены грибы: *Candida albicans*, *Aspergillus fumigates*.

Интересным является сравнение стоимости лечебных мероприятий в опытной и контрольной группе. Сравнительный анализ стоимостных показателей без учета трудозатрат выявил наиболее выгодное применение схемы с фаговым препаратом относительно традиционной схемы с применением антибиотиков (см. рисунок 1).

Рисунок 1 – Разница стоимостных показателей схем профилактики эндометритов на 1 корову

Таким образом, разница стоимости профилактики послеродовых эндометритов с использованием препарата бактериофагов «Фагогин» составила на 1 корову 679 рублей экономии.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучению возможности применения фаговых препаратов и эффективности профилактических мероприятий для получения экологически чистой продукции в условиях молочно-товарной фермы с использованием препарата бактериофагов компании ООО НПЦ «МикроМир» «Фагогин» на фоне применения препарата «Фагодерм (КРС)» при запуске в сухостой были посвящены настоящие исследования. Решение поставленных задач в ходе выполнения научно-исследовательской работы выявило перспективные возможности применения полифаговых препаратов, на основе вирулентных бактериофагов для профилактики послеродовых эндометритов. Учитывая тот факт, что основным способствующим фактором возникновения послеродового эндометрита у коров является снижение резистентности организма без глубокого изучения динамики уровня резистентности и анализа причин, приводящих к ее ослаблению, невозможно решить вопросы, связанные с назначением рациональных, научно-обоснованных лечебно-профилактических мероприятий.

Предварительными исследованиями установлен состав бактериального пейзажа половых путей у коров при эндометритах. Анализ соответствия выделенных патогенов позволил определить возможность применения препарата «Фагогин» как средства, содержащего вирулентные бактериофаги, гомологичные основным идентифицированным микроорганизмам.

В ходе исследований установлено, что препарат «Фагогин» является альтернативой антибактериальным средствам, применяемым для профилактики эндометритов в условиях молочно-товарной фермы, т.к. его профилактическая эффективность достигнута на уровне 89,5% без использования антибиотиков. Сравнительный анализ схем профилактики опытной и контрольной групп показывает очевидные преимущества использования полифагового препарата «Фагогин». Несмотря на большую предрасположенность к возникновению клинического эндометрита в опытной группе, из-за большего количества случаев задержания последа, профилактическая эффективность оказалась выше на 42,1%.

Всего препаратом «Фагогин» были обработаны 19 коров на фоне средства «Фагодерм» перед запуском для профилактики маститов. Стоит отметить, что количество коров с задержанием последа в опытной группе было больше, чем в контрольной на 2. Как известно, задержание последа – предрасполагающий фактор к эндометриту, то есть риск развития послеродовых эндометритов в опытной группе был больше, чем в контрольной. Кроме того, дальнейшими нашими исследованиями отмечено отсутствие эндометритов при однократном применении препарата сразу после отделения последа. Данный аспект указывает на возможность равной эффективности профилактического действия «Фагогин» при однократном и двукратном применении, что становится экономически привлекательным для молочного производства.

Обратим внимание, что на 14 день после обработки разница в профилактической эффективности схем в обеих группах была незначительна, однако к 30 дню она достигла 42%. Возможно, при использовании комплексной схемы с применением антибиотиков происходит подавление микрофлоры на определенный период, связанное, скорее всего, с низкой чувствительностью бактерий к используемому антибактериальному препарату. После чего восстановление нормофлоры слизистой ткани эндометрия происходит медленнее, чем размножение патогенной и сапрофитной микрофлоры. Бактериологический анализ позволяет констатировать наличие некоторых культур, гомологичных фагам из состава препарата, что требует продолжения исследований по доработке комбинативной составляющей и адаптации

«Фагогина» для ветеринарных целей. Адаптация предусматривает и разработку готовой формы препарата (лучше гелевой) для внутриматочного введения.

При расчете затрат средств на профилактику эндометритов установлено, что использование методики с применением препарата «Фагогин» выгоднее, чем комплексная схема, используемая в хозяйстве, на 679 рублей из расчета на одну корову. Таким образом, экономическая целесообразность использования схемы опытной группы, при условном подсчете затрат профилактики на 19 коров без учета трудозатрат – наглядна и составила – 12901 рубль. Важен фактор повышения качества продукции. Комплексная замена антибактериальных препаратов, используемых для профилактики маститов и эндометритов, на препараты бактериофагов позволит повысить качество молока и мяса, минимизируя ограничительные мероприятия по выпуску продукции и уменьшению распространения антибиотикорезистентных штаммов бактерий.

Высокая эффективность препарата «Фагогин» в профилактике эндометритов, предполагает возможное использование препарата в лечебных целях при данной патологии.

ВЫВОДЫ

Проведенными исследованиями установлена высокая профилактическая эффективность полифагового препарата «Фагогин» в системе мероприятий по предупреждению послеродовых эндометритов. Эффективность при схеме двукратного введения препарата «Фагогин» с интервалом 5 дней в дозе 30 мл достигнута на уровне 89,5%, что выше на 42,1%, чем в контрольной группе, обработанной комплексной схемой с антибиотиком.

Экономическая выгода при использовании «Фагогина» открывает перспективы широкого профилактического применения препарата на практике. Препараты бактериофагов могут являться средством профилактики эндометритов в условиях молочно-товарной фермы, альтернативным химиотерапевтическим средствам. Их применение позволяет обеспечить получение экологически чистой продукции.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Громыко Е.В. Этио-патогенетическая терапия эндометритов у коров: Автореф. дисс... канд. вет. наук. – Саратов, 2010, 21 с.
2. Епанчинцева О.С., Семеруненко С.О. Микробный пейзаж содержимого матки и секрета молочной железы коров при послеродовой патологии / Вестник ветеринарии, 2012, №4, С. 42-44.
3. Кузьмич Р.Г. Послеродовые эндометриты у коров: Автореф. Дисс.. докт. вет. наук. Витебск, 2000. 39 с.
4. Левкиевский Д.Н. Этиология, эпизоотология и профилактика послеродовых эндометритов у коров на молочных комплексах: Автореф. дисс... докт. вет. наук. – Ленинград, 1990, 41 с.
5. Панков Б.Г. Профилактика, фармакопрофилактика, ранняя диагностика, лечение клинических и скрытых эндометритов у коров: Дисс... докт. вет. наук.–М, 2003, 317 с.
6. Пименов Н.В. Перспективы применения бактериофагов в ветеринарии / Ветеринария и кормление, 2009, №5, С. 34-35.