

**Л.А. Сафронова, А.И. Осадчая**

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев

## **ЭФФЕКТИВНЫЙ БИОПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ПОСЛЕРОДОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**



*На основе двух штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, дополняющих друг друга по биологической активности, разработан препарат-пробиотик Эндоспорин для лечения и профилактики послеродовых эндометритов и задержки последа у коров. Выполнены разносторонние исследования специфической активности и безвредности биопрепарата для теплокровных. Эндоспорин показал более высокую эффективность в сравнении с общепринятыми при данной патологии в ветеринарной медицине средствами. Уникальные свойства пробиотика используются для профилактики и безоперативного, самопроизвольного удаления последа у коров при его задержке более 6–12 часов после отела.*

*К л ю ч е в ы е с л о в а:* биопрепарат, пробиотик, Эндоспорин, специфическая активность, безвредность, эндометрит у коров

Послеродовые острые и хронические воспалительные процессы родовых путей у коров и других сельскохозяйственных животных — одна из актуальных проблем развития животноводства. Так, в разных хозяйствах частота возникновения послеродовых гнойно-катаральных эндометритов, задержки последа и других форм септических послеродовых заболеваний колеблется от 30 до 80 %. Следствием этих заболеваний является снижение продуктивности, ухудшение качества продукции, стойкие функциональные и органические изменения в воспроизводительных органах, бесплодие крупного рогатого скота. Лечебный и профилактический эффект далеко не всегда достигается имеющимися современными этиотропными и симптоматическими средствами. При необходимости комплексного воздействия на больной организм животного при данных патологиях действие используемых

средств часто проявляется односторонне — только как антимикробное или симптоматическое.

Современные представления об этиологии и патогенезе рассматриваемых заболеваний животных определяют требования к эффективным лечебно-профилактическим препаратам как к средствам комплексного действия на организм.

Высокую эффективность в лечении и профилактике способен оказать комплекс этиотропного, патогенетического, иммуностимулирующего механизмов действия при максимальной безвредности применяемого средства для тканей, систем, физиологических процессов и организма животного в целом.

В возникновении и развитии послеродовых эндометритов обоснованно признается их полиэтиологическая природа. Первопричина может быть разной. Массированное развитие микрофлоры в родовых путях животных может быть причиной или следствием заболева-

ния. В любом случае роль микробных возбудителей в патологии — одна из главных. Поэтому эффективное лечебно-профилактическое средство должно обладать также выраженным этиотропным антимикробным действием.

В Институте микробиологии и вирусологии НАН Украины проводятся фундаментальные исследования биологии аэробных спорообразующих бактерий рода *Bacillus*. Многие представители этой группы микроорганизмов синтезируют широкий ряд биологически активных веществ, характеризуются отсутствием патогенных свойств и безвредностью для теплокровных. Накопленные научные сведения позволяют вести целенаправленную разработку эффективных средств для лечения и профилактики конкретных патологий человека и животных. При этом возможно использование как выделяемых чистых веществ (антимикробных и др.), так и биологически высокоактивных живых микробных культур для конструирования препаратов-пробиотиков.

Одна из таких разработок — препарат для лечения и профилактики послеродовых эндометритов у коров и других видов сельскохозяйственных животных.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы микробиологические, биохимические, иммунологические, токсикологические и др. методы исследований. Материалом для исследований служила микрофлора, выделенная от здоровых коров и больных гнойно-катаральным эндометритом в хозяйствах Киевской и других областей Украины. Была исследована антагонистическая и другая биологическая активность 300 штаммов аэробных бацилл, относящихся к 14 видам рода *Bacillus*. При изучении лечебно-профилактической эффективности препарата Эндоспорина использовали опытные образцы пробиотика, изготовленные в Институте микробиологии и вирусологии. Использовались методы исследований, результаты кото-

рых определяют безвредность препарата и его специфическую, в том числе профилактическую и терапевтическую, активность при послеродовых гнойно-катаральных эндометритах и задержании последа у коров [1—3, 5, 7—9].

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

На первых этапах разработки была исследована микрофлора, выделенная из экссудата матки коров при гнойно-катаральных эндометритах с целью определения микробных этиологических факторов заболевания. Было установлено, что послеродовые эндометриты у коров могут вызываться или осложняться многими видами гноеродных патогенных и условно патогенных бактерий, чаще всего относящихся к кишечной группе. Высеваемая микрофлора почти всегда была смешанной и состояла из нескольких видов.

Из многочисленных ассоциаций бактерий, высеянных при острых эндометритах у 90 коров, были изолированы и идентифицированы 117 чистых культур разных видов, наиболее часто встречающихся при данной патологии. С целью определения этиологического значения выделенной микрофлоры экспериментально исследовались ее патогенность и вирулентность на лабораторных животных, а также чувствительность к 18-и антибиотикам, поступающим в практику ветеринарной медицины [5]. Было показано, что выделенную бактериальную микрофлору в большинстве случаев можно рассматривать как потенциальных возбудителей эндометритов или таких, что могут осложнять эти воспалительные процессы.

Анализ прогностической оценки возможной эффективности испытанных антимикробных препаратов показал, что ни один из 18-и антибиотиков не может быть рекомендован к практическому применению для терапии и профилактики рассматриваемой патологии из-за устойчивости к ним возбудителей [5].

В результате исследований антагонистической активности 300 штаммов разных ви-

дов аэробных бацилл в отношении бактериальных возбудителей эндометритов были получены биологически высокоактивные культуры [2, 7]. Они синтезировали и продуцировали широкий ряд активных метаболитов: антимикробных веществ, ферментов, в том числе бактериолитических и дрожжелитических, аминокислот, экзополисахаридов и обладали способностью повышать неспецифическую резистентность организма [3, 4, 6]. На основе двух штаммов аэробных бацилл нами был сконструирован биопрепарат, предназначенный для лечения и профилактики рассматриваемых патологий родовых путей коров. Штаммы не проявляли взаимный антагонизм и дополняли друг друга по спектру антагонистической (в отношении возбудителей) и биосинтетической активностям [8, 9].

Изучены многие вопросы, решение которых необходимо для создания препарата. В их числе различные аспекты специфической активности штаммов, составляющих основу эндоспорина и созданного препарата в целом. Важно отметить стимулирующее влияние препарата на иммуногенез, на функциональную активность фагоцитов и продукцию эндогенного интерферона в организме животных [3].

Нами исследованы вопросы физиологии штаммов, их питательные потребности и ростовые свойства. Разработана эффективная дешевая питательная среда с использованием отходов растениеводства. Определены параметры продуктивного биотехнологического процесса получения препарата методом глубинного культивирования. С использованием методов математического планирования экспериментов достигнута максимальная продуктивность процесса культивирования по выходу количества жизнеспособных клеток продуцента, его спор и биологически активных веществ. Разработаны основные требования к качеству препарата и методы его контроля.

На последующих этапах были выполнены исследования, результаты которых характеризуют безвредность препарата. На лабора-

торных животных (белых мышах, кроликах, а также на коровах) были исследованы хроническая и острая токсичность препарата и культур бацилл, составляющих его основу. Изучено раздражающее действие на слизистые оболочки у животных. Особое внимание уделено исследованиям влияния Эндоспорина на функциональные и морфологические, в том числе гистологические, показатели внутренних органов и систем организма лабораторных животных и коров. При этом особое внимание уделено резорбтивным свойствам культур бацилл и препарата. Показано, что культуры бацилл не проникают в гематоэнцефалический барьер и не поступают в молоко. После месячного курса внутриматочного и внутривагинального введения Эндоспорина коровам в рекомендуемых лечебных дозах культуры препарата в поперечно-полосатых мышцах (мясе) и во внутренних органах обнаружены не было.

Было исследовано влияние многократных введений препарата на общее состояние и сердечно-сосудистую систему коров, на кровь и кроветворение, функцию и морфологию печени, почек, селезенки, на региональные лимфатические узлы, морфологию и сократительную функцию мышц матки, на центральную нервную систему и на состояние поперечно-полосатых мышц. По результатам исследований функциональных проявлений и анализа гистологических препаратов внутренних органов животных неблагоприятного влияния Эндоспорина не установлено [1]. Полученные данные о специфической активности и безвредности для теплокровных разработанного препарата послужили основанием для проведения испытаний Эндоспорина в ряде хозяйств Киевской, Черниговской и Сумской областей. Была определена лечебная и профилактическая эффективность пробиотика при послеродовых гнойно-катаральных эндометритах и задержании плодных оболочек (последа) у коров.

Эндоспорин представляет собой стандартизованную лиофилизированную биомассу.

Таблиця 1

Сравнительная лечебная эффективность Эндоспорина при эндометритах у коров

Группа коров	Диагноз	Количество голов	Препарат	Клинически здоровых голов		Кратность осеменения	Количество дней от отела до оплодотворения
				Абс.	%		
Контрольная	Здоровые	6	Не лечили	8	100	1,7	47
Контрольная	Эндометрит	6	Трициллин <sup>1</sup>	8	92	2,1	64
Контрольная	Эндометрит	11	Палочки Фуразолидона <sup>2</sup>	9	80	1,8	53
Опыт Лечение	Эндометрит	37	Эндоспорин <sup>3</sup>	37	100	1,5	45
Опыт Профилактика	Здоровые	10	Эндоспорин	10	100	1,0	30

Примечания: <sup>1</sup> — одна доза содержит 400 000 ед. пенициллина, 500 000 ед. стрептомицина и 1 г стрептоцида; <sup>2</sup> — 1 г Фуразолидона, 0,2 г лимонной кислоты и 1,9 г желатина; <sup>3</sup> — одна доза содержит 100 млрд. живых клеток бацилл.

Она содержит вегетативные клетки и споры двух штаммов бацилл, их биологически активные метаболиты и сухой остаток среды роста [8]. Этот препарат в количестве 0,5–1,0 г (в зависимости от продуктивности технологического процесса) с содержанием не менее 100 млрд. микробных тел помещен в стерильную ампулу или флакон, что и составляет разовую дозу для коровы при внутриматочном или интравагинальном введении.

Для профилактики послеродовых эндометритов Эндоспорин вводился за 1–2 недели до планового отела. Курс лечения коров при развившемся эндометрите составлял 3–4 или более введений разовых доз в зависимости от тяжести воспалительного процесса и клинических, бактериологических и биохимических показателей до полного выздоровления.

Лечебная эффективность Эндоспорина изучалась в сравнении с общепринятыми средствами — Трициллином и палочками Фуразолидона, которые широко используются в ветеринарии в качестве средств местной этиотропной терапии при данной патологии. В группе коров, больных эндометритом, эффект лечения Трициллином был достаточно высоким (92%). Однако при этом проявилось неблагоприятное действие препарата в восстановительных процессах: в существенном увеличении крат-

ности осеменения и дней от отела до оплодотворения, которые являются важными показателями для характеристики лечебной эффективности препарата. В группе животных, где использовались палочки Фуразолидона, эффект получен только на 80% (табл. 1). Показатели кратности осеменения и дней до оплодотворения также были недостаточно удовлетворительными.

Вместе с тем в группе животных, леченных Эндоспорином, полученные результаты не уступают данным контрольной группы здоровых коров с физиологически и клинически нормальным отелом и послеродовым периодом. Лечебная эффективность Эндоспорина при воспалении эндометрия может достигать 100%.

Серьезную проблему представляет также задержание последа после отела более 6–12 часов. В таких случаях очень часто развивается эндометрит и другие гнойно-воспалительные осложнения. Результаты испытаний эффективности Эндоспорина при профилактике и лечении задержки последа у коров представлены в табл. 2. В разных хозяйствах во всех опытных группах животных получены сходные результаты. Также введение с целью профилактики Эндоспорина до отела и после родов обеспечивают нормальное самопроиз-

Таблиця 2

Эффективность Эндоспорина при профилактике и лечении задержки последа у коров

Место проведения опытов	Цель опытов	Количество коров		Сроки введения препарата		Кратность введения препарата	Количество коров, у которых отделился послед	Эффективность, %
		в опыте	с задержкой последа	до отела, дней	после отела, час			
Совхоз "Совки"	Лечение	9	9	—	6–12	1	9	100
	Профилактика	10	—	12–15	—	1	10	100
Ясногородский ветеринарный участок	Лечение	10	10	—	6–12	1	10	100
	Профилактика	10	—	14–15	—	1	10	100
Совхоз "Маяк"	Профилактика	15	—	10–15	—	1	12	80
	Профилактика	20	—	—	1	1	19	95
	Профилактика	19	—	10–15	1	2	19	100

Таблиця 3

Эффективность Эндоспорина в профилактике эндометритов у коров

Цель опыта	Количество животных	Сроки введения препарата		Доза, млрд. клеток	Количество коров				
		до отела, дней	после отела, час		с нормальным течением родов	с задержкой последа	заболевших эндометритом	клинически здоровых в послеродовой период	
								Абс.	%
Профилактика	14	3–10	Не вводили	100	10	4	2	12	85,7
Профилактика	11	13–16	Не вводили	100	6	5	0	11	100
Профилактика	6	Не вводили	9–24	100	3	3	0	6	100
Контроль	11	Не вводили	Не вводили	—	6	5	6	5	45,5

вольное отделение последа не менее чем в 80–90 % случаев. Особенно показателен эффект биопрепарата при задержании последа более 6–12 часов, хотя обычно в таких случаях плодные оболочки отделяют хирургическим путем. При использовании пробиотика послед самопроизвольно отделялся в течение 2–2,5 часов [9]. Объективно оценивая такое свойство Эндоспорина, следует признать его как уникальное. Можно предполагать, что такой эффект — это проявление действия гидролитических ферментов, продуцируемых штаммами *Bacillus subtilis*, которые составляют основу препарата, хотя и другие биологически активные компоненты также могут иметь действенное значение. Считается, что

механизм эффективного действия пробиотиков из бацилл носит комплексный характер. Выяснение разных сторон этого механизма требует дальнейших исследований.

Эффективность Эндоспорина для профилактики эндометритов при его введении коровам за 1–2 недели до планового отела достигала 85–100 %, что, вероятно, связано с санацией родовых путей коров до отела бациллами препарата (табл. 3). Наибольший профилактический эффект был получен в группе животных, которым Эндоспорин вводили внутриматочно через 9–24 часов после отела. Ни у одной из коров не был отмечен воспалительный процесс, даже в тех случаях, когда имелась задержка последа. В контрольной группе,

где испытываемый препарат не вводился, у 45,5 % коров отмечались выраженные клинические проявления эндометрита.

Эффективность Эндоспорина подтверждена также при испытаниях пробиотика в Государственном научно-исследовательском контрольном институте ветпрепаратов (г. Львов). Согласована и утверждена научно-техническая документация на Эндоспорин (Наставление по применению, Технические условия — ТУ У, Технологический промышленный регламент). Эндоспорин разрешен для применения в Украине. В настоящее время с ООО "Бактериальные препараты" (г. Киев) заключен лицензионный договор на выпуск и продажу препарата.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Калиновский Г.М., Кудрявцев В.О., Сафронова Л.А. та ін. Эндоспорин у ветеринарному акушерстві, гінекології та хірургії // Тваринництво України. — 1998. — № 4. — С. 23–25.
2. Кудрявцев В.А., Сафронова Л.А., Осадчая А.И. и др. Антагонистическое действие аэробных спорообразующих бактерий на возбудителей эндометритов крупного рогатого скота // Микробиол. журн. — 1993. — Т. 55. — № 2. — С. 74–82.
3. Кудрявцев В.А., Сафронова Л.А., Осадчая А.И. и др. Влияние живых культур *B.subtilis* на неспецифическую резистентность организма // Микробиол. журн. — 1996. — Т. 58. — № 2. — С. 46–53.
4. Осадчая А.И., Кудрявцев В.А., Сафронова Л.А., Смирнов В.В. Влияние источников питания на синтез экзополисахаридов и аминокислот штаммами *B. subtilis* // Микробиол. журн. — 1999. — Т. 61. — № 5. — С. 56–63.
5. Сафронова Л.А., Кудрявцев В.А., Осадчая А.И. Характеристика микрофлоры, выделенной при эндометритах крупного рогатого скота // Микробиол. журн. — 1991. — Т. 53. — № 6. — С. 71–77.
6. Сафронова Л.А., Кудрявцев В.А., Осадчая А.И. Литическая активность штаммов *B.subtilis*, условия ее выявления и поддержания // Биотехнология. — 2003. — № 5. — С. 16–21.
7. Сафронова Л.А., Осадчая А.И., Кудрявцев В.О. Специфічна активність штамів бактерій роду *Bacillus* — основи нового пробиотика Ендоспорин // Матеріали Міжн. наук.-практ. конф. "Пробіотики-XXI ст. Біо-

логія. Медицина.", 20–22 травня 2004, Тернопіль. — С. 25–30.

8. Патент 14569, Украина А6 ІК 35/74, С 12 N1/20 от 20.01.1997. Биопрепарат Эндоспорин для лечения и профилактики эндометритов животных / В.В. Смирнов, В.А. Кудрявцев, А.И. Осадчая и др.
9. Патент 12387, Украина, А 6 І 61 К 31/00 от 02.12.1996. Способ лечения и профилактики задержания послёда у коров / В.В. Смирнов, В.А. Кудрявцев, А.И. Осадчая и др.

Л.А. Сафронова, А.И. Осадчая

#### ЕФЕКТИВНИЙ БІОПРЕПАРАТ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ І ПРОФІЛАКТИКИ ПІСЛЯПОЛОГОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ У СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

На основі двох штамів бактерій роду *Bacillus*, що доповнюють один одного по біологічній активності, розроблено препарат-пробіотик Ендоспорин для лікування і профілактики післяпологових ендометритів у корів. Виконані різнобічні дослідження специфічної активності і нешкідливості Ендоспорину для теплокровних. Ендоспорин виявив більш високу ефективність порівняно з засобами, що найчастіше застосовуються в господарствах. Унікальні властивості Ендоспорину використовуються для профілактики і самостійного безоперативного видалення послёду у корів при його затримці понад 6–12 годин після отелення.

*Ключові слова:* біопрепарат, пробіотик, Ендоспорин, специфічна активність, нешкідливість, ендометрит у корів.

L.A. Safronova, A.I. Osadchaya

#### THE EFFECTIVE PREPARATION IN THE TREATMENT AND PROPHYLAXIS OF POSTPARTUM DISEASES IN FARM ANIMALS

On the basis of two strains of bacteria *Bacillus subtilis*, supplementing each other in biological activity, the preparation-probiotic Endosporinum for treatment and prophylaxis of postpartum endometritis in cows is developed. Wide examinations of Endosporinum specific activity and harmlessness for the warm-blooded animals have been fulfilled. Endosporinum has shown higher efficiency in comparison with preparations frequently used in economy means. Unique Endosporinum properties are used in prophylaxis and spontaneous unsurgical removal of fetal membrane in cows at its delay more than 6–12 hours after calving.

*Key words:* biopreparation, probiotic, Endosporinum, specific activity, harmfulness, endometritis in cows.

Надійшла до редакції 29.05.08.