

УДК 619:615.55-615.37

В. П. РИЖЕНКО, доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН

Г. Ф. РИЖЕНКО, кандидат біологічних наук

О. І. ГОРБАТЮК, кандидат ветеринарних наук

В. О. АНДРІЯЩУК, кандидат ветеринарних наук

О. М. ЖОВНІР, С. М. ТЮТЮН, О. В. РУДОЙ, П. П. КАМЕНЧУК,

Т. М. МАЗИГУЛА, Н. А. ТЕПЛЮК

Інститут ветеринарної медицини НААН України, м. Київ

ТЕОРЕТИЧНЕ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СТВОРЕННЯ НОВОГО ЗАСОБУ „ФУЗОЛІЗАТ” ДЛЯ ЛІКУВАННЯ І ПРОФІЛАКТИКИ ФУЗОБАКТЕРІОЗУ (НЕКРОБАКТЕРІОЗУ) ТВАРИН

Широке застосування антибіотиків для лікування корів за фузобактеріозу зумовлює складну проблему одержання та використання якісного молока. Тому створення біологічних препаратів з лікувальними і профілактичними властивостями для застосування у молочному скотарстві є нагальною проблемою сьогодення. Вирішенню цих проблем і присвячена дана публікація.

Ключові слова: антибактеріальні препарати (АБП), чутливість, фузобактерії, лізати.

Фузобактеріоз (некробактеріоз) – інфекційна контагіозна, надзвичайно поширена хвороба усіх видів тварин та птиці, яка характеризується гнійно-некротичним розпадом тканин на місці проникнення збудника захворювання та загальною інтоксикацією організму.

Сприйнятливими до захворювання на фузобактеріоз у першу чергу є дрібна рогата худоба (північні олені, вівці, кози), велика рогата худоба (ВРХ), свині, рідше коні, собаки, кішки, зайці, кенгуру, антилопи, джейрани, змії, черепахи, птахи та ін. З лабораторних тварин найбільш чутливі кролі, мурчаки, білі миші. На фузобактеріоз тяжко хворіють і люди [1].

Економічні збитки, яких завдає тваринництву фузобактеріоз, досить значні і пов'язані з передчасним вибракуванням тварин внаслідок зниження м'ясної і молочної продуктивності, зниження інтенсивності росту молодняку, втратою відтворювальної функції, з витратами на проведення лікувально-профілактичних заходів. Тому для запобігання або зменшення збитків від фузобактеріозу необхідно своєчасно проводити діагностичні, профілактичні заходи і лікування на ранніх стадіях захворювання тварин [2].

Наразі фузобактеріоз великої рогатої худоби в Україні займає провідне місце серед відомих бактеріозів. Проявляється хвороба переважно ураженням кінцівок і нерідко офіційно не реєструється як небезпечна інфекційна хвороба.

Вважаємо доцільним нагадати, що для специфічної профілактики фузобактеріозу в Україні нами розроблені вакцини „Некросан”, „Некросан-2”, „Некросан-3”, „Некросальм”, „Некроколісальм” та „Фузоактиносан”.

Щодо лікувальних засобів за фузобактеріозу тварин, то частіше всього використовуються антибактеріальні препарати, але не завжди вони є ефективними тому, що відсутній постійний моніторинг чутливості *F. necrophorum* до них. Нами виявлена низька чутливість збудника до більшості з 34 досліджених антибактеріальних препаратів. Має місце відмінність чутливості чистих культур збудника і в асоціаціях з різними мікроорганізмами.

Необхідно відмітити, що широке застосування антибактеріальних препаратів у тваринництві призводить до виникнення антибіотикостійких мікроорганізмів, що ускладнює і знижує рівень лікувально-профілактичних заходів та негативно впливає на безпечність продуктів тваринного походження.

Тому розробка нових лікувально-профілактичних засобів для специфічного лікування тварин за фузобактеріозу є актуальною.

Мета. Здійснити аналіз існуючих методів лікування тварин хворих на фузобактеріоз та обґрунтувати необхідність створення нових препаратів для специфічного лікування фузобактеріозу на основі продуктів метаболізму та лізованих клітин *F. necrophorum*.

Матеріали і методи досліджень. За період 2008-2012 рр. в умовах лабораторії анаеробних інфекцій з науково-дослідним референс-центром з вивчення та профілактики анаеробних інфекцій ІВМ НААН нами досліджено 197 зразків патологічного матеріалу від різних видів тварин з господарств Київської, Хмельницької, Черкаської, Донецької, Луганської, Полтавської, Вінницької, Херсонської, Житомирської, Кіровоградської та ін. областей України.

Вивчення антибіотикочутливості 227 польових ізолятів мікроорганізмів проводили на чашках Петрі з МПА та використанням дисків 34 АБП.

Одночасно ставили контрольні чашки: живильне середовище і антибіотики; живильне середовище і культура. Дослідні і контрольні чашки Петрі переглядали кожен день і витримували протягом 5-7 діб.

Кілька зразків сконструйованого нами препарату „Фузолізат” для специфічного лікування і профілактики фузобактеріозу досліджували за наступними показниками: фізичними і біологічними властивостями; стерильність; нешкідливість; залишкову кількість інактивантів; повнота інактивації; концентрація водневих іонів (рН); активність.

Результати досліджень. За результатами діагностичних досліджень патологічного матеріалу виділено 227 культур мікроорганізмів: *E.coli* – 45 культур (19,8 %), *Staph. aureus* – 45 (19,8 %), *Fusobacterium necrophorum* – 17 (7,5 %), *Cl. perfringens* – 18 (8 %), *Streptococcus spp.*, – 32 (14,1 %), *Diplococcus lanceolatus* – 31 (13,7 %), *Past. multocida* – 6 (2,6 %), *Act. lignieresii* – 5 (2,2 %), *Proteus vulgaris* – 8(3,5 %), *Listeria monocitogenes* – 2 (1 %), *Salm. typhimurium* – 1 (0,5 %), *Klebsiella pneumoniae* – 3(1,5 %), *Clostridium spp.* – 8(3,5 %), *Cl. oedematiens* – 1(0,5 %), *Cl. septicum* – 1(0,5 %), *Cl. histolyticum* – 2(1 %), *B. subtilis* – 1(0,5 %).

Нами виявлені відмінності щодо чутливості чистих культур *F. necrophorum* та його асоціацій з деякими клостридіями та коковою мікрофлорою.

Так ізоляти *F. necrophorum* і асоціації мікроорганізмів резистентні до 15 із 34 АБП (карбеніциліну, нетілміцину, аміксацину, неоміцину, канаміцину, тобраміцину, еритроміцину, кліндоміцину, тетрацикліну, фура-доніну, фузідіну, кларітроміцину, левоміцетину, рифампіцину, роксипроміцину). Значний відсоток і помірно стійких, а чутливі ізоляти *F. necrophorum* лише до ципрофлоксацину, норфлоксацину, цефалексіну, цефотаксиму, цефоперазому, імпіпенему.

Таким чином, використання АБП для лікування фузобактеріозу тварин без визначення чутливості до них патогенів є малоефективним.

Проводячи пошук ефективних препаратів для специфічного лікування і профілактики фузобактеріозу у тварин ми звернули увагу на лізати, які використовуються переважно у медичній практиці. За технологією виготовлення і терапевтичною дією близьким до аналогу є відомий імунобіологічний препарат “Актинолізат” [3], який є фільтратом лізованих аеробних бульйонних культур актиноміцетів, виділених із актиномікозних вогнищ людини. Останній використовують для діагностики і лікування актиномікозу у людей.

Наближеними до аналогів є діагностичні препарати:

- препарат “Малеїн”, що є стерильним фільтратом убитої нагріванням бульйонної культури збудника сапу. Застосовують його для алергічної діагностики сапу у коней, мулів, віслюків і верблюдів [4];

- препарат “Туберкулін” очищений (ППД) для ссавців, який являє собою очищену білкову фракцію, виділену з культуральної рідини збудника туберкульозу бичачого виду, що вирощений на синтетичному живильному середовищі [5].

Широко відомі гістолізати Тушнова – продукти розщеплення тканин і органів (тестолізат із сім’яників, оваріолізат із яєчників, тіреолізат із щитовидної залози, мамолізат із молочної залози, міолізат із м’язової тканини, гемолізат із крові), що використовуються з лікувальною метою [6].

Останнім часом у медичній практиці відмічається підвищена увага щодо використання бактеріальних препаратів, що мають неспецифічний імуностимулюючий і специфічний вакцинуючий ефекти. У першу чергу це препарати ліофілізованих лізатів бактерій для профілактики гострих респіраторних захворювань у дітей. Лікування такими препаратами дозволяє забезпечувати формування імунної відповіді практично щодо усіх значимих збудників як гострих, так і хронічних захворювань ЛОР-органів і верхніх дихальних шляхів.

Серед імуномодуляторів – лізатів мікробного походження можна виділити:

- Бронхо-імунал, що містить ліофілізований лізат бактерій *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus viridans*, *Streptococcus piogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* [7].

- ІРС 19 – це інгаляційний респіраторний стимулятор, що містить лізати найбільшої кількості штамів – 18 штамів мікроорганізмів, які є потенційними збудниками бактеріальних інфекцій верхніх дихальних шляхів – 6 штамів пневмококу, 4 види стрептококів, 3 види нейсерій та інших мікроорганізмів, які можуть бути причиною бактеріальних інфекцій носоглотки у дітей [8].

- Рибомуніл – бактеріальні рибосоми у комбінації з мембранними фракціями. Дослідженнями доведено, що рибомуніл є ефективним засобом захисту. Препарат можна застосовувати як у вигляді монотерапії, так і імунокоректорів рослинного походження (ехінацея композитум) за персистенції бактеріальної та вірусно-бактеріальної флори під час ремісії у хворих дітей [8].

Усі перераховані імунолізати, що використовуються як у медичній так і у ветеринарній практиці, є моно- або полілізатами, виготовленими для окремих конкретних захворювань або декількох захворювань (ЛОР-органів, верхніх дихальних шляхів).

Для профілактики і лікування фузобактеріозу (некробактеріозу) відповідний лізат розроблений уперше.

В основі виготовлення „Фузолізату” є лізис мікроорганізмів *F. necrophorum*, що супроводжується пошкодженням клітинної мембрани мікроорганізму і виходом компонентів цитоплазми у зовнішнє середовище. Лізис збудника проходить під впливом бактеріолізінів, бактеріофагів, лізоциму та інших агентів.

Технологія виготовлення препарату „Фузолізат” включає наступні процеси:

- приготування розплодок *F. necrophorum* на матриці із печінковим екстрактом з додаванням 0,5% крові тварин і витримкою 24 год.;
- пересів матричної культури *F. necrophorum* на поживні середовища і культивування за температури 37,0 °С протягом 30 діб, 60 та 90 діб у анаеробних умовах;
- додавання розчину брильянтової зелені та 0,3% формаліну.

Таким чином, препарат „Фузолізат” для специфічного лікування і профілактики фузобактеріозу тварин включає розчинні продукти метаболізму та лізованих клітин (гемолізін, некротоксин, гіалуронідазу, лецитин) *F. necrophorum*.

Препарат „Фузолізат” призначений для лікування та профілактики фузобактеріозу великої та дрібної рогатої худоби. Обробці підлягає поголів'я тварин, виходячи з епізоотичної ситуації.

Фузолізат вводять підшкірно в області шиї, або внутрішньої поверхні стегна у дозах відповідно до віку тварин.

Щеплюють тварин двічі з інтервалом 7 днів. За необхідності щеплення продовжують до видужання тварин, але не більше 30 діб. Фузолізат застосовують у дозах, вказаних у табл.1

Таблиця 1

Дози препарату для щеплення тварин в залежності від віку

Вид та вік тварин	Доза препарату, см ³			
	I неділя	II неділя	III неділя	IV неділя
1	2	3	4	5
Корови, нетелі і молодняк старше 2-х років	5,0	5,0	10,0	10,0
Молодняк ВРХ віком 1-2 роки	3,0	3,0	3,0	3,0
Молодняк ВРХ віком 6-12 міс.	2,0	2,0	3,0	3,0
Телята віком 1-6 міс.	2,0	2,0	2,0	2,0
Вівці дорослі	3,0	3,0	3,0	3,0
Ягнята 3-12 міс.	2,0	2,0	2,0	2,0

За гнійно-некротичних уражень, що локалізуються переважно на нижніх частинах кінцівок, на вимені, статевих органах, крім підшкірного введення препарату, рекомендується такі вогнища обробляти фузолізатом. Для цього необхідно попередньо провести ретельну хірургічну обробку уражених ділянок шкіри (видалення змертвілих тканин і зрошення ранової поверхні дезінфікуючими речовинами). Після хірургічної обробки ранову поверхню змащують фузолізатом і накладають пов'язку. Таку обробку проводять через 1-2 доби і повторюють до видужання тварин. Тяжко хворим тваринам дозволяється одночасно з фузолізатом застосовувати антибактеріальні препарати з урахуванням чутливості до них *Fusobacterium necrophorum*.

В умовах АФ „Шахтар” (філія ПСГП шахти ім. О.Ф. Засядько) нами здійснено випробування фузолізату (під назвою „некролізат”) на 3 дослідних групах корів. Тваринам першої групи (n=14) фузолізат застосовували зовнішньо, змінюючи пов'язки через 2 доби. Коровам 3 групи (n=17) препарат вводили підшкірно у дозі 5, 10 см³ з інтервалом 7 діб. Коровам 3 групи (n=12) препарат застосовували комплексно підшкірно, у зазначених вище дозах та місцево, шляхом зрошення пов'язок та місця ураження кінцівок.

В АФ „Світанок” фузолізат застосовували також внутрішньошкірно у дозі 0,5-1,0, 1,5 і 2,0 см³. Фузолізат, крім того, що є лікувальним засобом, в організмі тварин викликає деяку імунологічну перебудову, що сприяє напрацюванню антитіл до збудника фузобактеріозу. Вираженість імунологічної перебудови залежить від фізіологічного стану щеплених тварин.

У організмі щеплених тварин відбувається імунологічна перебудова, про що свідчать показники гуморального і клітинного імунітету. Так, титри аглютининів на 14-ту добу після щеплення зростають в 2 рази відносно вихідних даних, протективна і нейтралізуюча властивість сироваток крові щеплених тварин з'являється через 14 діб після другого щеплення, достовірно зростає фагоцитарна активність крові та завершеність фагоцитозу.

У стадах, де кількість хворих тварин сягає 30-50% від усього наявного поголів'я, щеплювати тварин рекомендується протягом 30 діб – 4 рази через кожні 7 діб.

Таким чином, препарат “Фузолізат” характеризується високою специфічною лікувальною та профілактичною ефективністю і не має обмежень для застосування. Одночасно забезпечує лікування і формування імунітету у тварин проти фузобактеріозу [9].

За застосування фузолізату у комплексі з іншими засобами у стадах, де кількість хворих сягає до 50%, втрати тварин скорочуються у 2-3 рази. Щеплення тварин сприяє підвищенню стійкості до захворювань, одужанню тяжко хворих тварин, збереженості молодняка.

Протипоказання щодо застосування препарату відсутні.

Ефективність лікувальної роботи порівнювали з власним досвідом лікування тварин із застосуванням інших препаратів. Відповідальними за проведення дослідів були н.с. Каменчук П.П. та головний лікар ветмедицини філії Лідовських В.О.. В усіх трьох дослідях вони виявили позитивний вплив фузолізату без застосування інших АБП. Протягом 2-3 тижнів одужали усі тварини. Найкращі результати були одержані за комбінованої форми застосування фузолізату –

одужання наступало на 6-12 діб раніше. Подальші дослідження стосувалися застосування препарату “Фузолігат” у поєднанні з імуностимулюючими препаратами власного виробництва „СТП”, „БСП”, настоянкою прополісу. Мета цих досліджень – відпрацювати методи терапії тварин хворих на фузобактеріоз та з ураженням кінцівок, шляхом застосування біологічних засобів. На препарат розроблено комплект нормативної документації.

Пропозиції та перспективи подальших досліджень. Є необхідність подальшого удосконалення фузолігату шляхом створення нових лікарських форм та методів аплікації препарату, а також впровадження нанотехнологій за його виробництва.

Висновки

1. Теоретично та експериментально обґрунтована можливість створення біологічного препарату фузолігату, застосування якого буде сприяти скороченню випадків та тривалості антибіотикотерапії у молочному скотарстві за фузобактеріозу.

2. Застосування “Фузолігату” коровам з ураженням кінцівок сприяє скороченню термінів лікування на 2-3 обробки.

3. Результати апробації препарату “Фузолігат” в умовах виробництва свідчать про перспективність його використання у лікувально-профілактичній роботі на фермах, неблагополучних щодо фузобактеріозу

Список використаної літератури

1. *Риженко В. П.* Актуальні питання профілактики некробактеріозу / В. П. Риженко // Ветеринарна медицина України. 1998.-№11-12.-С.15
2. *Риженко В. П.* Стан та перспективи удосконалення специфічної профілактики фузобактеріозу (некробактеріозу) / В.П. Риженко, Г.Ф. Риженко, О.І. Горбатюк, В.О. Андріящук, Л.С. Мілько, М.С. Ющенко// Ветеринарна біотехнологія К.: Бюл. №14-2009.-С.253-266
3. Актинолизат // «Ветеринарная энциклопедия».- М. 1968.-С.105-106.
4. Малейн. // Ветеринарні імунобіологічні препарати: Довідник/ За заг. ред. П. І. Вербицького, А. М. Головка. -К.: Реферат; 2004.-С.251.
5. Туберкулін очищений (ППД) для ссавців.// Ветеринарні імунобіологічні препарати: Довідник/ За заг. ред. П.І. Вербицького, А.М. Головка.-К.: Реферат, 2004.-С. 247.
6. Лизаты / Ветеринарный энциклопедический словарь. - «Советская энциклопедия».-М. 1981- С. 108-109, 272.
7. *Чернышова Л. И.* Профилактика бактериальных инфекций верхних дыхательных путей у детей с помощью ингаляционного раствора бактериальных лизатов (УРС-19) / Л.И. Чернышова, В.В. Синяченко, Н.В. Науменко // Перинатология та педіатрія.-2002.-№3-С.68-70.
8. *Чернышова Л. И.* Особливості місцевого імунітету у часто хворюючих дітей та у дітей з імунодефіцитом IgA, можливості корекції його порушень

бактеріальними лізатами./ Л.І. Чернишова, С.А. Якимович, Л.В. Галазюк // Современная педиатрия. 2006-№1(10).-С.49-53.

9. Патент України № 56314 Україна, МПК (2011) „Препарат “Фузолізат” для специфічного лікування і профілактики фузобактеріозу (некробак-теріозу) тварин. / В. П. Риженко, В. Г. Скрипник, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк, В. О. Андріяшук, С. М. Белік, П. П. Каменчук, І. В. Галка, О. М. Жовнір, О. В. Рудой, М. С. Ющенко; ІВМ УААН.– заявл. 15.06.2010; опубл. 10.01.2011. Бюл. №1.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОЗДАНИЯ НОВОГО СРЕДСТВА „ФУЗОЛИЗАТ” ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ ФУЗОБАКТЕРИОЗА (НЕКРОБАКТЕРИОЗА) ЖИВОТНЫХ/ Рыженко В. П., Рыженко Г. Ф., Горбатюк О. И., Андрияшук В. А., Жовнир А. М., Тютюн С. Н., Рудой А. В., Камечук П. П., Мазыгула Т. Н., Теплюк Н. А.

При широком использовании антибиотиков при лечении фузобактериоза коров возникает проблема получения и использования молока. Поэтому создание биопрепаратов для лечения фузобактериоза в молочном скотоводстве является актуальной задачей. Решению этой проблемы посвящена данная публикация.

Ключевые слова: антибактериальные препараты (АБП), чувствительность, фузобактерии, лизаты.

THEORETICAL AND EXPERIMENTAL STUDY ON DEVELOPING A NEW TOOL "FUZOLIZAT" FOR THE TREATMENT AND PREVENTION FUZOBAKTARIOZIS (nekrobakteriozis) ANIMALS / Rizhenko V. P., Rizhenko G. F., Gorbatyuk O. I., Andriyashuk V. A., Zhovnir A. M., Tiutiun S. N., Rudoy A. V., Kamenchuk P. P., Mazygula T. N., Teplyuk N. A.

With the wide use of antibiotics in cows fuzobakteriozis problem of obtaining and using milk. Therefore, the creation of biological products for the treatment of fuzobakteriozis in dairy farming is an urgent task. This problem is the focus of this publication.

Keywords: antibiotics (ABP), the sensitivity, fuzobakterii, lysates.

Рецензент: кандидат ветеринарных наук **В. В. Уховський**

Рукопис надійшов 22. 07. 2013р.