УДК 619:618.1:616-085:636.2

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА АРГУМИСТИН® ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ У КОРОВ

Юрий Андреевич Крутяков, к.х.н., старший научный сотрудник
ФГБОУ ВО "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова"
Павел Геннадьевич Симонов, научный сотрудник
Юрий Александрович Хаперский, к.в.н., доцент, заведующий отделом
ФГБНУ "Алтайский научно-исследовательский институт животноводства и ветеринарии"
Борис Викторович Виолин, к.в.н., заведующий отделом
ФГБУ "Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов"
Сергей Васильевич Федотов, д.в.н., профессор
ФГБОУ ВПО "Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина"

Показана эффективность нового антибактериального серебросодержащего препарата Аргумистин® (10 мкг/мл серебра коллоидного, 100 мкг/мл хлорида бензилдиметил[3-миристоил-аминопропил]аммония моногидрата) при терапии высокопродуктивных коров с хроническим гнойно-катаральным эндометритом. Для сравнения использовали лекарственное средство на основе хлорида бензетония (в смеси с анаприлином). Аргумистин® способствовал снижению сроков выздоровления и повышению показателей оплодотворяемости животных. ***Ключевые слова:*** хронический эндометрит, коллоидное серебро, мирамистин, Аргумистин®, бесплодие, неспецифическая резистентность.

Effecientcy of a new antibacterial preparation Argumistin® at a chronic endometritis at cows

Yu.A. Krutyakov, P.G. Simonov, Yu.A. Khaperskiy, B.V. Violin, S.V. Fedotov

The objectives of the study were to assess effectiveness of a new antibacterial nanosilver-based veterinary drug Argumistin® (10 ppm of silver nanoparticles, 100 ppm of benzyldimethyl[3-(myristoylamino)propyl]ammonium chloride monohydrate) in treatment of cows with chronic endometritis when administered intrauterine. One experimental and one control group in total included 56 Holstein cows (average milk yield per cow per year 6500 – 7000 liters) with chronic endometritis from Komsomolskaya Dairy Farm (Altai region, Russia). The reference drug used in the control group contained benzethonium chloride as active component. The use of Argumistin® resulted in significant improvement of the reproductive performance of cows and their recovery from chronic endometritis. ***Key words:*** chronic endometritis, colloidal silver, miramistin, Argumistin®, infertility, nonspecific resistance.

Главным результатом лечения коров при послеродовом эндометрите является восстановление их репродуктивной способности [8]. В этом случае необходимо не только подавление патогенной микрофлоры, но и купирование воспалительного процесса, который нередко распространяется за пределы эндометрия в глубинные слои стенки матки [9, 19].

Предполагается, что бороться с воспалением животное должно за счет внутренних резервов организма, однако зачастую этого бывает недостаточно, что приводит к переходу заболевания в хроническую форму [7].

Воспаление эндометрия – ранний защитный ответ системы иммунного гомеостаза организма, который характеризуется продуцированием цитокинов воспаления с последующей активацией клеток иммунной системы животного [13]. Первыми признаками этого процесса являются увеличение проницаемости стенки сосудов, высвобождение простагландинов и факторов хемотаксиса (интерлейкины, факторы некроза опухолей), определяющих направление движения нейтрофилов к очагу воспаления. Макрофаги, появляющиеся в данной зоне через 48 – 96 ч, также продуцируют цитокины и факторы роста, что способствует дальнейшему развитию иммунного ответа.

Знание механизмов противовоспалительных процессов, происходящих в эндометрии, необходимое условие для создания новых противовоспалительных препаратов, устраняющих дисбаланс в продукции цитокинов и антиоксидантов, который вызывает повреждение слизистой оболочки [12] и хроническую форму заболевания.

Наноразмерное серебро используют

в качестве антимикробного агента на протяжении более чем ста лет. Однако только в последнее десятилетие были проведены исследования на разных моделях, доказавшие противовоспалительную активность наносеребра и его ранозаживляющие и регенерирующие свойства [14]. В ряде работ отмечено, что наночастицы серебра оказывают системное противовоспалительное действие, индуцируя биохимические процессы, направленные на снижение воспаления даже тех участков, где прямой контакт тканей с наночастицами исключен [15]. Полученные данные свидетельствуют о селективной индукции апоптоза воспаленных клеток наряду со снижением экспрессии и активности матриксных металлопротеиназ-2 и 9 и цитокинов воспаления (TGF)-β и (TNF)-α на участках тканей без прямого воздействия наночастиц серебра [6, 20]. При этом достоверно доказано отсутствие их значимой миграции к соседним участкам. Иммуногистохимический анализ подтверждает снижение уровня цитокинов воспаления – фактора некроза опухоли альфа (TNF)-α и интерлейкина-8 (IL-8), а также повышение уровней противовоспалительного цитокина – интерлейкина-4 (IL-4), фактора роста кератиноцитов (FGF7), фактора роста кератиноцитов-2, эпидермального фактора роста [5, 17]. Таким образом, взаимодействие наносеребра с клетками верхних слоев кожи и слизистых оболочек индуцирует иммунохимические процессы, приводящие к системному снижению воспаления.

С учетом изложенного выше целесообразна разработка и апробация нового препарата на основе наночастиц серебра для профилактики и терапии при хронических эндометритах коров.

Наночастицы и ионы серебра способны неспецифически и необратимо связываться со многими молекулярными мишенями прокариот, поэтому выработка устойчивости патогенных микроорганизмов к серебру и его соединениям маловероятна. Однако в литературе подобные случаи описаны [10, 16].

Для минимизации рисков возникновения резистентности к серебросодержащим препаратам последние целесообразно комбинировать с другими антибактериальными агентами. Ранее в экспериментах in vitro было обнаружено, что наночастицы серебра и молекулы антисептика – хлорида бензилдиметил[3-(миристоиламино)пропил]аммония (мирамистина) при сочетанном применении усиливают действие друг друга – проявляют синергетический эффект [18]. Полученная композиция легла в основу создания лекарственного средства для ветеринарного применения Аргумистин®, прошедшего полный цикл доклинических и клинических испытаний, доказавшего свою безопасность и эффективность [1, 2]. Он зарегистрирован на территории РФ (регистрационное удостоверение №77-3-14.14-2411№ПВР-3-14.14/03088).

Цель данной работы – изучение эффективности Аргумистина® при хронических эндометритах у высокопродуктивных коров и влияние препарата на гематологический профиль, и некоторые показатели неспецифической резистентности.

Материалы и методы. Научно-производственный опыт проводили в ФГУП ПЗ "Комсомольское" Павловского района Алтайского края на коровах черно-пестрой породы приобского типа, больных хроническим гнойно-катаральным эндометритом, с удоем 6,5 – 7,0 тыс. кг молока в год. У 32 животных регулярно брали пробы маточных выделений с целью выявления возбудителя [4].

Препарат Аргумистин® (хлорид бензилдиметил[3(миристоиламино)пропил]аммония моногидрат 100 мкг/мл и коллоидное серебро 10 мкг/мл) и антибактериальное лекарственное средство на основе хлорида бензетония (в смеси с анаприлином), зарегистрированное в установленном порядке, вводили внутриматочно с помощью шприца Жанэ и

катетера для искусственного осеменения. При этом коровам опытной группы (n=28) применяли Аргумистин® в дозе 70 мл через день, трехкратно и внутримышечно пропранолола гидрохлорид (0,5 %) в дозе 10 мл; контрольной группы (n=28) – лекарственное средство на основе хлорида бензетония 0,75 мг/мл и пропранолола гидрохлорида 15,0 мг/мл в дозе 70 мл, через день, 3 раза.

Хронический эндометрит у животных диагностировали на основании анамнеза и клинических признаков [3], а состояние воспроизводительной функции – путем ретроспективного анализа данных племенного учета и регулярных акушерско-гинекологических исследований. При оценке терапевтической эффективности препаратов учитывали следующие показатели: сервис-период, процент выздоровления и осеменения в течение 2 недель после лечения, оплодотворяемость в течение 60 дней после лечения и после 1-го осеменения.

Данные обрабатывали статистически с помощью программы Excel с последующей оценкой критериев достоверности по Стьюденту.

Результаты исследований. В пробах маточно-цервикальной слизи от коров, больных хроническим гнойно-катаральным эндометритом, были изолированы преимущественно энтеробактерии (табл. 1): Klebsiella spp. (32,81 %), в том числе Klebsiella ozaenae (57,14 %), Klebsiella pneumoniae (42,86 %); E. coli (31,25 %); Proteus (23,44 %), в том числе Proteus vulgaris (73,33 %), Proteus mirabies (26,67 %); Citrobacter spp. (20,31 %); грибы Mucor spp. (3,13 %). Из грамположительных кокков выделили Staphylococcus spp. (28,13 %), в том числе S. aureus (55,56 %), S. epidermidis (44,44 %), и Streptococcus spp. (15,63 %). При этом ассоциацию микроорганизмов родов Klebsiella spp. + Citrobacter spp. выделили в 10 пробах, E. coli + Proteus spp. – в 6, Klebsiella spp. + Staphylococcus spp. + Streptococcus spp. – в 7 и E. coli + Staphylococcus spp. – в 4 пробах. В виде монокультуры чаще присутствовала E. coli (9,38 %). Следовательно, хронический гнойно-катаральный эндометрит у животных чаще обусловлен ассоциациями микроорганизмов 2 – 3 видов. Основными их представителями являются энтеробактерии.

Данные по эффективности препарата Аргумистин® при хроническом гнойно-катаральном эндометрите у коров представлены в таблице 2.

Таблица 1

Видовой состав микроорганизмов цервикальной слизи коров с хроническим гнойно-катаральным эндометритом

Микроорганизмы и грибы	Монокультура		В ассоциациях		Всего
	число	%	число	%	
Klebsiella spp.	3	4,69	18	28,13	32,81
В том числе:					
K. ozaenae	0	0,00	12	18,75	18,75
K. pneumoniae	3	4,69	6	9,38	14,06
E. coli	6	9,38	14	21,88	31,25
Proteus spp.	4	6,25	11	17,19	23,44
В том числе:					
Proteus vulgaris	3	4,69	8	12,50	17,19
Proteus mirabies	1	1,56	3	4,69	6,25
Citrobacter spp.	1	1,56	12	18,75	20,31
Mucor spp.	1	1,56	1	1,56	3,13
Staphylococcus spp.	2	3,13	16	25,00	28,13
В том числе:					
S. aureus	0	0,00	10	15,63	15,63
S. epidermidis	2	3,13	6	9,38	12,50
Streptococcus spp.	3	4,69	7	10,94	15,63
Всего	20		78		

Таблица 2

Эффективность Аргумистина® при хроническом эндометрите у коров

Показатель	Группа	
	опытная	контрольная
Число животных, гол.	25	25
Из них выздоровело, гол. (%)	25(89,3)	14(50,0)
Длительность лечения, дней	6,86±0,2**	8,50±0,1
Кратность введения препарата, раз	2,43±0,5*	2,82±0,1
Стельных в течение 90 дней после лечения, гол. (%)	21(75,0)	14(50,0)
Оплодотворилось после 1-го осеменения, гол. (%)	16(57,1)	5(17,8)
Сервис-период, дней	36,89±0,1**	40,07±2,1

*P<0,01; **P<0,001

После лечения остаточные гнойные выделения обнаружили у трех коров опытной группы и у 14 – контрольной. Наиболее длительным оно было в контрольной группе и составляло в среднем 8,5 дня, что на 1,64 дня (19,33 %) короче по сравнению с опытной группой (P<0,001). При этом на 13,92 % (P<0,01) сократилась кратность введения препаратов. У животных опытной группы по сравнению с контрольной группой на 3,18 дня (7,93 %) уменьшился сервис-период (P<0,001). После применения Аргумистина® стельной в течение 90 дней стала 21 корова (75,0 %). В контрольной группе данный показатель был на 25 % меньше. В течение 14 дней после лечения в опытной группе осеменили, и оплодотворилось после 1-го осеменения соответственно на 14,3 и на 39,3 % голов больше, чем в контрольной.

Заключение. Аргумистин® при применении коровам с хроническим гнойно-катаральным эндометритом показал достаточно высокую эффективность. По сравнению с аналогичным препаратом он способствовал сокращению сроков выздоровления, повышению оплодотворяемости и уменьшению сервис-периода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боляхина С.А., Насартдинова Г.Ф., Донченко Н.А. и др. Исследование острой и хронической токсичности препарата Аргумистин. Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2014; 3:95 – 101.

2. Казаринов Н.П., Донченко Н.А., Богданова М.С. и др. Изучение хронической энтеротоксичности антибактериального препарата Аргумистин® при энтеральном введении. Аграрная наука. 2015; 2:21 – 25.

3. Методические указания по диагностике, терапии и профилактике болезней органов размножения у коров и телок. М., 2000.

4. Методические указания по определению чувствительности к антибиотикам возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. В.Ф. Грезин, Я.Е. Коляков, П.С. Окуньков и др. ВИЭВ. 1972; 13 с.

5. Asharani P.V. et al. Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. Nanotechnology. 2008; 19 (25): 255102.

6. Bhol K.C., Schechter P.J. Topical nanocrystalline silver cream suppresses inflammatory cytokines and induces apoptosis of inflammatory cells in a murine model of allergic contact dermatitis. British Journal of Dermatology. 2005; 152 (6):1235 – 1242.

7. Brodzki P. et al. Determination of selected parameters for non-specific and specific immunity in cows with subclinical endometritis. Animal reproduction science. – 2014; 148(3):109 – 114.

8. De Boer M.W. et al. Invited review: Systematic review of diagnostic tests for reproductive-tract infection and inflammation in dairy cows. Journal of Dairy science. 2014; 97(7):3983 – 3999.

9. Esslemont R.J., Kossaibati M.A. The use of databases to manage fertility. Animal reproduction science. 2000; 60:725 – 741.

10. Hobman J.L., Crossman L.C. Bacterial antimicrobial metal ion resistance. Journal of Medical Microbiology. 2015; 64:471 – 497.

11. Klasen H. A Historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renew Interest for silver. 2000; 26(2):131 – 138.

12. LeBlanc S.J., Osawa T., Dubuc J. Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. Theriogenology. 2011; 76(9):1610 – 1618.

13. Loyi T. et al. Expression of Pathogen Recognition Receptors and Pro-Inflammatory Cytokine Transcripts in Clinical and Sub-Clinical Endometritis Cows. Animal biotechnology. 2015; 26(3):194 – 200.

14. Nadworny P.L. et al. Anti-inflammatory activity of nanocrystalline silver-derived solutions in porcine contact dermatitis. Journal of Inflammation. 2010; 7(1):13.

15. Nadworny P.L. et al. Does nanocrystalline silver have a transferable effect? Wound Rep. Reg. 2010; 18:254 – 265.

16. Silver S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. FEMS microbiology reviews. 2003; 27(2 – 3):341 – 353.

17. Tian J. et al. Topical delivery of silver nanoparticles promotes wound healing. ChemMedChem. 2007; 2(1):129 – 136.

18. Vertelov G.K. et al. A versatile synthesis of highly bactericidal Myramistin® stabilized silver nanoparticles. Nanotechnology. 2008; 19(35):355 – 707.

19. Walker C.G. et al. Modulation of the immune system during postpartum uterine inflammation. Physiological genomics. 2015; 47(4):89 – 101.

20. Wright J.B. et al. Early healing events in a porcine model of contaminated wounds: effects of nanocrystalline silver on matrix metalloproteinases, cell apoptosis, and healing. Wound Repair and Regeneration. 2002; 10(3):141 – 151.