

На правах рукописи

КИРИЛЛОВ ЕВГЕНИЙ ГЕННАДЬЕВИЧ

**КРИПТОСПОРИДИОЗ ТЕЛЯТ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН
(ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА, ПАТОМОРФОЛОГИЯ И
ТЕРАПИЯ)**

03.02.11 – паразитология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Казань – 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, доцент
Латыпов Далис Гарипович

Официальные оппоненты: **Никитин Василий Филиппович** – доктор ветеринарных наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории паразитарных зоонозов ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина».
Васильева Валентина Алексеевна - доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры морфологии, физиологии и ветеринарной патологии ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева».

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева»

Защита диссертации состоится «24» мая 2017 года в «11.00» на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 006.011.01 созданного на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина».

Адрес: 117218, г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «ВНИИП им. К.И. Скрябина» и на сайте <http://www.vniigis.ru/>

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь совета по защите диссертаций
на соискание ученой степени кандидата наук,
на соискание ученой степени доктора наук,
доктор биологических наук, профессор

Бережко Вера Кузьминична

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Острые кишечные инфекции новорожденных телят остаются одной из наиболее актуальных проблем ветеринарии во всех регионах России (Л.Ю. Топурия, Г.М. Топурия, 2007; А.Я. Батраков, Н.Н. Кротов, В.К. Балюк и др., 2010; Ю.Н. Федоров, 2014; Д.С. Ионичев, 2015). Чрезвычайное распространение желудочно-кишечных болезней телят в ранний постнатальный период обуславливается различными этиологическими факторами (М.М. Ковалев, 2003; Ю.Н. Зайцев, 2007; О.С. Юрина, М.И. Сложенкина, 2008).

Решающее значение в возникновении массовых желудочно-кишечных болезней у новорожденных телят приходится энтеропатогенным штаммам *E. coli*, сальмонеллам, рота–коронавирусам и вирусу диареи (В.И. Терехов, 2002; С.И. Джунина, 2003; А.В. Олейник, 2009; А.Г. Шахов, Ю.Н. Масьянов, Л.Ю. Сашнина, А.И. Золотарёв, 2010).

Исследованиями последних лет доказана значительная роль патогенных культур криптоспоридий в развитии желудочно-кишечных заболеваний новорождённых телят. Криптоспоридиозная инвазия имеет широкое распространение на территории всего мира, в том числе во всех зонах нашей страны, в хозяйствах с разной технологией производства, и наносит значительный ущерб животноводству. Этот ущерб складывается от недополучения прироста, увеличения падежа среди больных животных, и затрат на проведение лечебных мероприятий (Е.В. Петрович, 2006; В.Ф. Никитин, 2007; М.Н. Мусаева, Н.Р. Будулов, С.А. Жидков, 2008; В.А. Васильева, П.А. Кулясов, 2013; С.Ш. Абдулмагомедов, В.Ф. Никитин, 2014).

Вместе с тем, остается неизученной эпизоотология криптоспоридиоза телят в Республике Татарстан, поэтому нет сведений о распространённости болезни, возрастной и сезонной динамики инвазии.

В условиях хозяйства возникает необходимость быстрой постановки диагноза и определения ведущего возбудителя при выявлении клинических признаков диареи. Однако, диагностика криптоспоридиоза является трудной задачей, поскольку копроскопические и иммунологические методы диагностики инвазии недостаточно изучены, и они требуют дальнейшего усовершенствования (И.А. Архипов, М.Б. Мусаев, Н.И. Кошеваров и др., 2006; В.Ф. Никитин, 2007).

В последние годы были изучены некоторые вопросы патогенеза и патоморфологии криптоспоридиоза у телят, поросят и птиц (Д.М. Колосова, 1993; Т.В. Новикова, 1999; Р.М. Таирова, 2003; Т.И. Решетникова, 2004; М.Ю. Файзуллина, 2005). Вместе с тем остаётся недостаточно выясненной патоморфогенез органов пищеварительной, выделительной и иммунной систем.

При лечении криптоспоридиоза животных применялись различные кокциостатики, антибиотики, сульфаниламиды и нитрофурановые препараты, однако все они оказались малоэффективными (О.П. Краснова, 2001, П.А. Кулясов, 2011). Поэтому перед исследователями возникла необходимость совершенствования этиотропной терапии и изыскания наиболее эффективных препаратов для успешной борьбы с криптоспоридиозами животных.

В настоящее время продолжают поиски высокоэффективных химиотерапевтических препаратов для лечения криптоспоридиоза телят (А.Л. Кряжев, 2005; С.Ш. Абдулмагомедов, В.Ф. Никитин, Н.С. Дудка, 2013; М.Д. Новак, С.Ш. Енгашев, Э.Х. Даулигалиева, 2014; М. Shahiduzzaman, A. Dauschies, 2012). Вместе с тем дальнейшее изыскание наиболее эффективных средств терапии данной инвазии остается перспективной задачей.

Степень разработанности темы. Криптоспоридиоз телят в условиях Республики Татарстан остается неизученным. Поэтому исследования, посвященные изучению эпизоотологии, апробации методов лабораторной диагностики, описания патоморфологических изменений, разработка методов лечения и профилактики криптоспоридиозной инвазии актуальны, теоретически и практически значимы.

Цель и задачи исследований. Целью нашей работы являлось изучение особенностей эпизоотологии криптоспоридиоза телят в Республике Татарстан (РТ), описание патоморфологических изменений, усовершенствование диагностики и способов лечения данной инвазии. Для реализации указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить эпизоотологию, возрастную и сезонную динамику криптоспоридиоза телят в хозяйствах с разной технологией производства в условиях РТ;
2. Усовершенствовать копроскопическую диагностику криптоспоридиоза;
3. Изучить патоморфологические изменения в органах и тканях телят при криптоспоридиозной инвазии;
4. Определить эффективность современных препаратов при лечении криптоспоридиоза телят;
5. Провести анализ морфологических и биохимических показателей крови телят после применения различных терапевтических препаратов.

Научная новизна результатов заключается в получении новых данных по эпизоотологической ситуации по криптоспоридиозу телят в хозяйствах Республики Татарстан с разной технологией производства. Проведена апробация нового иммунологического теста экспресс диагностики криптоспоридиоза телят в условиях производства, а также усовершенствован копроскопический метод. Осуществлено всестороннее изучение

патоморфологических изменений в органах и тканях при криптоспориidioзе телят, предложен эффективный способ лечения при данной инвазии.

Практическая значимость результатов комплексных исследований при криптоспориидозной инвазии были использованы при разработке методических указаний – «Инновационные методы борьбы с криптоспориидозом телят в Республике Татарстан», которые утверждены ГУВ КМ РТ 2 июня 2016 г. Наряду с отмеченной, материалы экспериментальных исследований по диссертации используются в учебном процессе при проведении лекционных и практических занятий в ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», а также при проведении семинаров-совещаний.

Методология и методы исследований. Методологической основой проведенных исследований является комплексный подход по изучению эпизоотологии, диагностики и патоморфологии криптоспориидоза телят в хозяйствах Республики Татарстан и изыскания эффективных средств лечения больных животных. В связи чем, нами были применены эпизоотологические, паразитологические, иммунологические, микробиологические, клинические, морфологические гематологические, биохимические и статистические методы, позволившие разработать комплекс мероприятий по диагностике и терапии больных криптоспориидозом телят.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Эпизоотологическая ситуация по криптоспориидозу телят в Республике Татарстан;
2. Методы диагностики криптоспориидоза телят и их усовершенствование;
3. Патоморфологические изменения в органах и тканях телят при криптоспориидозной инвазии;
4. Эффективность нового отечественного препарата «Азитронит» в сочетании с Миксофероном при лечении телят, больных криптоспориидозом.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов работы обусловлена большим объемом проведенных исследований с использованием современных методов, принятых при морфологических, паразитологических, гистологических, микробиологических, гематологических и биохимических исследованиях.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены: на Всероссийской научно-практической конференции «Ветеринарная медицина и зоотехния, образование, производство: актуальные проблемы» (Казань, 2014); на Международной научной конференции «Актуальные вопросы зоотехнии и ветеринарной медицины: опыт, проблемы и пути их решения» (Казань, 2015); на Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 2015); на Международной научно-практической конференции

молодых ученых и специалистов «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Троицк, 2015); на открытом конкурсе научных работ среди обучающихся на соискание премии имени Н.И. Лобачевского (Казань, 2016); на Международной научной конференции «Современные проблемы ветеринарной и аграрной науки и образования» (Казань, 2016); на расширенном заседании профессорско-преподавательского состава кафедр микробиологии, эпизоотологии, паразитологии и радиобиологии, биологической и неорганической химии, организации ветеринарного дела; анатомии, патологической анатомии и гистологии ФГБОУ ВО «Казанская ГАВМ» (Казань, 2016).

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 13 научных работ, из них 5 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в которых изложены основные положения и выводы по изучаемым вопросам.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 146 страницах компьютерного набора текста и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, практические предложения и приложения. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 25 рисунками. Список литературы включает 230 источников, из них 116 зарубежных авторов. Приложение на 15 страницах.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Представлен анализ отечественной и иностранной литературы по эпизоотологии, диагностике, патогенезу и патоморфологии криптоспоридиоза, а также средства и способы защиты телят от криптоспоридиоза.

2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы и методы исследований

Работа выполнялась в 2013-2016 гг. на кафедре анатомии, патологической анатомии и гистологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

Распространение криптоспоридиоза изучали в 2013-2016 гг. в разных хозяйствах Республики Татарстан: СХПК «им. Вахитова», ООО «Восток», ООО «Дружба», ОАО «КукморАгрохимсервис», ООО «АФ Кукмара» Кукморского района, КФХ «Дуслык», ООО «Бурбаш» Балтасинского района, КФХ «Мухаметшин З.З.» Сабинского района, ОАО «Красный Восток - Агро мегаферма Чув. Брод», ОАО «Красный Восток - Агро мегаферма Юхмачи»

Алькеевского района, ОАО «Красный Восток – Агро мегаферма Левашово» Алексеевского района.

Для диагностики криптоспоридиоза в каждом хозяйстве были обследованы телята от 1 до 40 дневного возраста (2822 головы). При этом учитывали клинические признаки криптоспоридиоза (диарея, обезвоживание), а также проводили лабораторные исследования.

Изучение сезонной динамики развития криптоспоридиоза телят проводили в ОАО «Кукморагрохимсервис» Кукморского района РТ в течение 2015-2016 г.г. В ходе анализа степени заражения молодняка криптоспоридиозом были учтены клинические признаки болезни и результаты копрологических исследований у 297 животных разного возраста и пола. Исследование половозрастной динамики проводили в ОАО «Красный Восток - Агро мегаферма Чув. Брод» Алькеевского района РТ у телят от 1 до 40 дневного возраста.

Для диагностики криптоспоридиоза в каждом хозяйстве были обследованы телята от 1 до 40 дневного возраста. При этом учитывали клинические признаки криптоспоридиоза (диарея, обезвоживание) и проводили лабораторные исследования. Фекалии телят исследовали на обнаружение ооцистов криптоспоридий с помощью различных копрологических методов, с последующей микроскопией мазков, окрашенных карбол-фуксином по Цилю-Нильсену. Из проб фекалий делали мазки и исследовали на выявление ооцист криптоспоридий. Для этого использовали: методы нативного мазка, седиментации с центрифугированием, седиментации по Красильникову по модификации Красновой, водно-эфирной седиментации, уксусно-эфирной седиментации, формалино-эфирной седиментации, а также модифицированный нами метод. При изготовлении мазков их высушивали на воздухе, фиксировали жидкостью Никифорова, окрашивали по Циль-Нильсену и рассматривали под иммерсионным увеличением микроскопа.

Для определения видовой принадлежности криптоспоридий использовали «Определитель паразитических простейших» (М.В. Крылов, 1996). Определение численности криптоспоридий в фекалиях проводили по методике В.Ф. Никитина (2007).

Для идентификации возбудителя инвазии в фекалиях телят испытали набор «H&R Crypto Экспресс-тест для выявления криптоспоридий в кале».

Гистологическую обработку патологического материала проводили по общепринятым методам (Микроскопическая техника: Руководство / под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Перова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.). Готовые микропрепараты исследовали под микроскопом (окуляр х 10, объектив 20, 40, 90) и фотографировали на цифровой фотоаппарат (zoom х 2).

Для проведения опыта по изучению эффективности различных препаратов по результатам копрологических исследований были отобраны 35 телят в возрасте 5-13 дней, спонтанно зараженных криптоспоридиозом. Из

них были сформированы 5 групп (4 опытные и 1 контрольная) по 7 голов в каждой.

Телята контрольной группы не получали лечения.

В первой опытной группе использовали схему лечения, применяемую в хозяйстве, и телятам вводили внутримышечно «Амоксициллин» из расчета 1 мл препарата на 10 кг живой массы животного. Животным второй опытной группы использовали противоккокцидиозный препарат «Ампролиум» в дозе 1,5 г на одного теленка перорально 1 раз в день в течение пяти дней. Телята третьей опытной группы получали препарат «Дитрим» из расчета 1 мл препарата на 10 кг живой массы. Животным четвертой опытной группы был введен препарат «Азитронит» в дозе 1 мл на 20 кг живой массы внутримышечно. Совместно с химиотерапевтическими средствами были назначены иммуностимулирующий препарат «Миксоферон».

Для проведения производственного опыта по результатам копрологических исследований были отобраны 46 телят в возрасте 5-10 дней, спонтанно зараженных криптоспориديозом, с клиническими признаками нарушения функции пищеварения (диарея). Из них были сформированы 2 группы. Животным опытной группы применяли «Азитронит» (в дозе 1 мл на 20 кг 1 раз сутки) + «Миксоферон» (в количестве 10 доз 2 раза в день).

Телята контрольной группы лечебных препаратов не получали.

Влияние различных методов лечения на гематологические и биохимические показатели в организме изучали на 15 телятах больных спонтанной формой криптоспориديоза. Из них были сформированы 3 группы (2 опытные и 1 контрольная) по 5 животных в каждой.

В первой опытной группе телят использовали внутримышечно «Амоксициллин» из расчета 1 мл препарата на 10 кг живой массы животного, иммуностимулятор «Миксоферон» в количестве 10 доз 2 раза в день в течение 5 дней, также препарат «Нитаминол» в дозе 1 мл однократно.

Животные второй опытной группы применяли препарат «Азитронит», иммуностимулятор «Миксоферон» в количестве 10 доз 2 раза в день в течение 5 дней, также препарат «Нитаминол» в дозе 1 мл однократно.

Телята контрольной группы не получали лечебных препаратов.

Кровь для морфологических и биохимических исследований брали до и через 7, 14, 30 суток после назначения испытуемых препаратов.

Кровь для гематологических и биохимических исследований брали в объеме 4-5 мл с помощью вакуумных пробирок и одноразовыми шприцами из яремной вены телят.

Количество форменных элементов, лейкограмму и иммунологические показатели крови крупного рогатого скота определяли на гематологическом анализаторе Medonic, и биохимические – Selectra Junior.

Математические подсчеты и статистический анализ по t-критерию Стьюдента проводили на компьютере с использованием программы Microsoft Excel (2007).

2.2 Результаты исследований

2.2.1 Эпизоотология криптоспоридиоза телят в хозяйствах Республики Татарстан

2.2.1.1 Распространение криптоспоридиоза телят в Республике Татарстан

Инвазированность телят криптоспоридиозом в молочно-товарных фермах (МТФ) и мегафермах в разных районах Республики Татарстан показана в таблице 1.

Из таблицы видно, что в 11 хозяйствах установлена различная степень инвазированности телят криптоспоридиозом. Из исследованных 2822 животных клиническое проявление болезни (диарея) отметили у 1611 голов (57,1 %), из них зараженными оказались 1266 телят (44,9 %).

Таблица 1– Инвазированность телят криптоспоридиозом в МТФ и мегафермах в разных районах Республики Татарстан

№ п/п	Район	Название хозяйства	Кол-во жив.	Больные телята.			
				Клинич.		Зараж.	
				Гол	%	Гол	%
1	Кукморский	СХПК «им. Вахитово»	215	43	20,0	12	5,6
		ООО «Восток»	150	49	32,7	23	15,3
		ООО «Дружба»	201	70	34,8	54	26,9
		ОАО «Кукморагрохимсервис»	467	297	63,5	176	37,7
		ООО «АФ Кукмара»	46	28	60,9	21	45,6
2	Балтасинский	КФХ «Дуслык»	155	71	45,8	60	38,7
		ООО «Бурбаш»	167	48	28,7	29	17,4
3	Сабинский	КФХ «Мухаметшин З.З.»	243	87	35,8	65	26,7
4	Алькеевский	ОАО «КВ-Агро мегаферма Чув. Брод»	925	729	78,8	659	71,2
		ОАО «КВ-Агро мегаферма Юхмачи»	121	91	75,2	84	69,4
5	Алексеевский	ОАО «КВ-Агро мегаферма Левашово»	132	98	74,2	83	62,9
6	Итого		2822	1611	57,1	1266	44,9

Анализ эпизоотических данных показал, что в разных хозяйствах инвазированность телят криптоспоридиозом колебалась в пределах от 5,6 до 71,2 %. При этом наименьший уровень заболеваемости отмечали в СХПК «имени Вахитова» Кукморского района, где из исследованных 215 животных 12 голов (5,6 %) были заражены криптоспоридиозной инвазией. В ООО «Восток» Кукморского района также отмечалась низкая степень

инвазированности, где криптоспоридии в фекалиях были обнаружены у 23 телят (15,3 %).

В ООО «Дружба» Кукморского района при диагностическом исследовании 201 теленка, признаки диареи наблюдались у 70 (34,8 %), – из них зараженными оказались 54 животных (26,9 %). В ОАО «КукморАгрохимсервис» этого же района при обследовании 467 голов, клиническое проявление болезни были диагностированы у 297 телят (63,5 %). Из них лабораторными исследованиями криптоспоридиоз был подтвержден у 176 животных (37,7 %).

Подобная эпизоотическая ситуация была зарегистрирована и в других животноводческих хозяйствах. Так, в хозяйстве КФХ «Дуслык» Балтасинского района при клиническом обследовании 155 животных, симптомы диареи были диагностированы у 71 телят (45,8 %), из них инвазированными оказались – 60 голов (38,7 %). В ООО «Бурбаш» этого же района из исследованных 167 голов криптоспоридиозной инвазией были поражены 29 телят (17,4 %). В КФХ «Мухаметшин 3.3.» Сабинского района при исследовании 243 телят клинически больными оказались 87 (35,8 %), зараженными – 65 голов (26,7 %).

В крупных животноводческих комплексах степень инвазированности телят криптоспоридиозом была выше. Так, например, в ОАО «Красный Восток – Агро мегаферма Юхмачи » Алькеевского района при исследовании 121 теленка, 91 (75,2 %) имели клинические признаки диареи. После проведения лабораторных исследований в фекалиях 84 голов (69,4 %) животных были диагностированы криптоспоридии. В ОАО «Красный Восток - Агро мегаферма Левашово» Алексеевского района при исследовании 132 животных зараженными криптоспоридиозом оказались 83 головы (62,9 %). Максимальную степень инвазированности телят наблюдали в ОАО «Красный Восток – Агро мегаферма Чув. Брод», где из исследованных 925 животных признаки диареи имели 729 (78,8 %) телят, а криптоспоридиозом оказались инвазированными 659 голов (71,2 %).

Таким образом, результатами проведенных исследований установили, что инвазированность телят криптоспоридиозом в среднем по республике составляет 44,9 %.

Было установлено, что степень заражения телят ооцистами криптоспоридий зависит от условий их содержания. Так, наименьший степень инвазированности животных наблюдали в хозяйствах СХПК «им. Вахитова», ООО «Восток», ООО «Бурбаш». Этому, прежде всего, способствовало использование сменных профилакториев, использование системы «все пусто – все занято» в них, качественная дезинфекция телятников и родильных профилакториев.

В хозяйствах, где нарушена технология выращивания телят, зараженность животных колебалась в пределах 26,7-45,6 %. Высокую степень инвазированности телят криптоспоридиозом отмечали в крупных

животноводческих комплексах. Максимальную степень зараженности телят (71,2%) наблюдали в ОАО «Красный Восток – Агро мегаферма Чув. Брод» Альшеевского района.

Причинами сильной инвазированнойности телят в этих животноводческих комплексах являются отсутствие сменных профилакторий и системы «все пусто – все занято». Кроме того, глубоко стельным коровам вместо сена, в рацион был включен кислый силос. Все это отрицательно влияло на иммунный статус организма новорожденных телят.

2.2.1.2 Сезонная динамика инвазирования животных криптоспориديозом

Результатами исследований было установлено, что в январе месяце ЭИ новорожденных телят криптоспоридиозом составила 56,2 %, в феврале она равнялась 62,8 %, а максимальное число заболевших телят наблюдали в марте – 76,9 %. Затем шло постепенное снижение числа инвазированных. Так, в апреле зараженность телят составила 59,1%, в мае – 30,5 %, а наименьший показатель инвазированнойности наблюдали в июне (3,8 %). В последующем ЭИ животных постепенно нарастала. Так, в июле она составила 6,7 %, в августе – 10,0 %, сентябре – 11,1 %, октябре – 17,6 %, ноябре – 28,6 %, а в декабре она достигла до 37,8 %.

Максимальное количество зараженных телят наблюдали в первом квартале (ЭИ $62,5 \pm 7,9$ %). Во 2-ом квартале инвазированнойность животных снижалась до $31,6 \pm 19,6$ %, в 3 - ем – до $9,2 \pm 1,6$ %, а в четвертом квартале этот показатель снова выросла до отметки $28,0 \pm 7,1$ %. Наибольший процент зараженности в зимне-весенний период связано со снижением естественной резистентности организма телят и скоплением ооцист криптоспоридий в родильных отделениях огромных количествах. К началу пастбищного периода телята размещаются в индивидуальных домиках, где низкий уровень ЭИ животных.

2.2.1.3 Возрастная динамика инвазирования животных криптоспоридиозом

Выделение ооцист криптоспоридий наблюдали на 4 сутки после рождения (14,5 %), у телят в возрасте 7 суток количество зараженных увеличилось до 45,6 %, а максимальное число инвазированных животных наблюдали на 9 сутки (52,1 %). Затем шло постепенное снижение ЭИ телят криптоспоридиозом. Так, через 13 суток после рождения инвазированнойность животных снижалась до 23,8 %, на 16 сутки – до 21,2 %, на 19 сутки – 18,2 %, на 21 сутки – 16,4 %, на 24 сутки – 12,4 %, на 27 сутки – 10,2 %, на 30 сутки – 7,1 %, Через 33 сутки после рождения ЭИ телят криптоспоридиозом составило всего 5,2 %.

Установлено, что теленок может заражаться возбудителем уже в родильном отделении, сразу после рождения, а выделение ооцист с фекалиями начинается на 4 сутки. При этом количество ооцист в 1 гр. фекалий составило в среднем $1,2 \pm 0,2$ млн единиц. Затем шло постепенное увеличения количества ооцист. Пик интенсинвазированнойности (ИИ) наблюдали на 9 сутки жизни теленка ($30,2 \pm 1,75$ млн ооцист). В последующем отмечали постепенное снижение количества ооцист. Так, на 13 сутки они составили $22,9 \pm 1,39$ млн, на 16 сутки - $14,7 \pm 1,24$ млн, на 19 сутки - $8,5 \pm 1,1$ млн, на 21 сутки - $1,6 \pm 0,22$ млн, на 24 сутки - $0,5 \pm 0,08$ млн, на 27 сутки - $0,13 \pm 0,05$ млн, на 30 сутки - $0,05 \pm 0,02$ млн, и на 33 сутки после рождения всего $0,03 \pm 0,01$ млн ооцист в одном грамме фекалий.

2.2.2 Эффективность различных лабораторных методов диагностики криптоспориоза телят

Результаты изучения эффективности различных седиментационных копроскопических методов показали, что метода нативного мазка выявил всего 46 % инвазированных животных. Кроме того, мазки получались грязными, и в них трудно было идентифицировать ооцист.

При использовании методов седиментации с центрифугированием и по Красильникову повышался процент выявления ооцист в мазках фекалий до 64% и 70% соответственно, однако при применении данных приемов мазки получают сильно загрязнёнными детритом.

Диагностическая эффективность водно-эфирного метода седиментации возросла до 76 %. При этом осадок получился меньше, чем в предыдущих методах. Использование укусно-эфирного метода седиментации позволило выявить ооцист криптоспориций в 82 % случаях.

При использовании формалино-эфирной седиментации количество выявленных образцов достигало до 86 %. Мазки были относительно чистыми, но часто встречались деформированные ооцисты.

Наиболее высокой диагностической эффективностью обладал модифицированный нами метод с использованием молочной кислоты при седиментации ооцист (96 %). Осадок получался незначительным, окрашенный мазок чистым, без примесей, метод не деформировал ооцист.

Обнаружение антигенов криптоспориций в фекалиях является одним из важнейших механизмов диагностики. В сравнительном плане нами были испытаны метод формалино-эфирной седиментации и экспресс тест H&R Crypto для диагностики криптоспориций в кале. При исследовании 30 животных, с помощью седиментации ооцист в фекалиях и окрашивания мазков всего было выявлено 13 (43 %) больных телят. При использовании испытуемого экспресс-теста удалось диагностировать 19 больных животных (63 %). Экспресс-тест оказался специфичным и высокочувствительным

методом, позволяющим за 10-15 мин диагностировать криптоспоридий в фекалиях телят.

2.2.3 Морфологическая оценка изменений в органах и тканях телят при криптоспориidioзе

У телят при спонтанном криптоспориidioзе, убитых на 4-6-е сутки после начала заболевания, в тонком отделе кишечника наблюдали признаки десквамативного катарального воспаления, отличавшегося неравномерным проявлением на всем протяжении слизистой оболочки. Сохранившиеся кишечные ворсинки выделялись полиморфизмом эпителиоцитов и в меньшей степени клеток формирующих остальные слои кишечной стенки. Наиболее деструктивные изменения возникали в апикальной области ворсинок в виде массового отторжения клеток эпителия. В прилегающих участках, как результат замедления обновления эпителия, отмечали наличие пикноморфных, базофильно окрашенных, утративших полярную структуру цитоплазмы энтероцитов. Часть этих клеток, отделенная от базальной мембраны, имела признаки некробиоза. Собственная пластинка слизистой оболочки выделялась значительным разволокнением ретикулярной основы, резкой инъекцией венул, запустением под эпителиальной капиллярной сети, атрофией гладкомышечных клеток, присутствием разреженных групповых скоплений лимфоидных клеток с примесью единичных эозинофильных гранулоцитов. Криптоспоридии обнаруживали в средней части ворсинок на кариолемме энтероцитов. Они выделялись округлой формой, имели 4-5 мкм в диаметре с четко очерченным центрально расположенным базофильно окрашенным ядром. Окружающие скопления криптоспоридий энтероциты имели признаки дезорганизации цитоплазмы и ядра.

В результате местных сосудистых расстройств в кишечной стенке образовывались неравномерно расширенные участки с отделением подслизистой оболочки от мышечного слоя. Отмеченные изменения в кишечной стенке тонкого кишечника характеризовали активную фазу поражения клеток слизистой оболочки криптоспоридиями.

В толстом кишечнике больных телят на 4-6-е сутки клинического проявления инвазии отмечали значительные по площади участки разрушения слизистой оболочки, но они также носили локализованный характер. Эпителий большинства крипт в апикальной области был сильно разрушен с обнажением сохранившейся структуры собственной пластики слизистой оболочки. В отдельных местах десквамативные и декомпозиционные процессы захватывали участки до середины пораженных крипт. В апикальной области сохранившихся крипт и особенно между возникшими складками эпителия обнаруживали многочисленные базофильно окрашенные криптоспоридии. Большинство их располагалось на поверхности эпителиоцитов цепочкой, что характеризует наличие у них

значительных адгезивных свойств. В складках слизистой оболочки чаще всего формировались компактные скопления криптоспоридий в различных стадиях развития, в том числе с формированием характерной для них паразитофорной вакуолю. В остальных структурных кишечной стенки толстого отдела, по сравнению с тонким кишечником, отмечали менее выраженные сосудистые расстройства гемоциркуляции, появление признаков отека и кровоизлияний.

На 12-14-е сутки течения инвазии деструктивные процессы в эпителии ворсинок и крипт тонкого кишечника носили диффузный характер. При этом ослабевала выраженность местных нарушений гемоциркуляции и дезорганизации компонентов соединительной ткани и выступала обильная инфильтрация лимфоидными клетками подслизистой основы и слизистой оболочки, значительная часть которых была с признаками кардио- и цитопикноза. Обнаружить криптоспоридии непосредственно на поверхности эпителия ворсинок и крипт не удавалось.

В толстом отделе кишечника на 12-14-е сутки болезни отмечали значительное усиление атрофических изменений как со стороны эпителия крипт, так и среди клеток и волокон, всех слоев кишечной стенки. В слизистой оболочке обнаруживали присутствие криптоспоридий. В подслизистой основе на фоне ослабления сосудистой гиперемии сохранились признаки мукоидного набухания стенок артериол и венул. Значительное разрежение субэпителиальной лимфоидной ткани в подслизистой основе свидетельствовало об ослаблении выраженности механизмов местной иммунной резистентности к этому сроку болезни.

По сравнению с предыдущим сроком исследования в межмышечных нервных сплетениях усиливались атрофические, некробиотические изменения ганглиозных клеток.

В увеличенной в объеме печени на 4-6-е сутки болезни отмечали неравномерное появление белково-жирового гепатоза. О снижении биосинтетической активности печени указывало наличие многочисленных пикноморфных гепатоцитов с гиперхромными мелкими ядрами с едва различимым одним, реже двумя ядрышками, расположенными вблизи кариолеммы. Местами в участках дисконфлексии балок обнаруживали обломки ядерного материала и цитоплазмы.

При подостром течении криптоспоридиозной инвазии реактивные деструктивные процессы в печени приобретали характер склеро-атрофических изменений паренхимы и стромы.

На 4-6-е сутки болезни в почках телят отмечали нарушения клубочковой инфильтрации, ее эндокринной регуляции, транспортной функции канальцевой сети. Развившийся белковый тубулонефроз охватывал большинство нефронов органа.

На 12-14-е сутки болезни почки сохраняли признаки нарушения клубочковой фильтрации, неравномерного проявления дистрофических, некробиотических изменений эпителия канальцев.

У больных криптоспориديозом телят в раннем постнатальном периоде отмечали значительное замедление процессов формирования полноценной лимфоидной ткани во вторичных лимфоидных органах. В брыжеечных лимфатических узлах и селезенке при остром и особенно подостром течении инвазии отмечали на фоне сосудистых расстройств гемокапиллярной сети только нарастание трансформации ретикулоцитов в дендритные клетки и макрофаги, тогда как лимфопролиферативные процессы значительно задерживались. В этих лимфоидных органах обнаруживали только начальные стадии формирования реактивных центров. Следовательно, у больных телят развиваются признаки нарастания вторичного иммунодефицита, что в дальнейшем усугубляло состояние местной тканевой и общей резистентности организма больных криптоспоридиозом телят.

2.2.4 Оценка терапевтической эффективности различных препаратов при криптоспоридиозе телят

В контрольной группе телят больных криптоспоридиозом диарея продолжалась в среднем $11,3 \pm 1,16$ дней, интенсинвазированность (ИИ) ооцистами равнялась $12,44 \pm 1,32$ экз.

Терапевтическая экстенсэффективность (ЭЭ) препарата «Амоксициллин» составила всего 14,3 %. Продолжительность диареи у телят наблюдалась в среднем $5,6 \pm 0,62$ дней. При этом интенсинвазированность (ИИ) снизилась до $5,86 \pm 1,87$ экз., интенсэффективность (ИЭ) препарата составила 51,6 %.

ЭЭ противоконцидиозного препарата «Ампролиум» равнялась 42,9 %. Клинические симптомы криптоспоридиоза продолжались в среднем $4,7 \pm 0,56$ дней. В конце опыта ИИ животных снизилась до $4,0 \pm 1,65$ экз., ИЭ препарата равнялась 67,6 %.

Хорошие результаты показал препарат «Дитрим» (содержащий 1 мл 200 мг сульфадимезина и 40 мг триметоприма). При этом ЭЭ препарата составила 71,4 %, диарея продолжалась в среднем $3,6 \pm 0,4$ дней. Количество ооцист после лечения снизилось до $1,14 \pm 0,93$. ИЭ испытуемого препарата возросла до 90,4 %.

Максимальной эффективностью обладал новый отечественный препарат «Азитронит», ЭЭ которого после применения составила 85,7 %, диарея телят продолжалась всего $3,0 \pm 0,33$ дней, ИИ криптоспоридиями снизилась до $0,29 \pm 0,31$ экз., ИЭ препарата достигала до 97,4 %.

2.2.4.1 Лечебная эффективность препарата «Азитронит» в сочетании с Миксофероном в производственном опыте

В контрольной группе телят, больных криптоспориديозом продолжительность диареи составила в среднем $13,7 \pm 1,56$ дней, при этом интенсифицированность (ИИ) ооцистами равнялась $10,4 \pm 1,23$ экз. В ходе опыта в контрольной группе из 11 телят пало 6 животных.

В опытной группе экстенсивность (ЭЭ) испытываемого препарата «Азитронит» в сочетании с Миксофероном через 7 дней после применения составила 77,1 %. При этом количество ооцист уменьшилось до $0,6 \pm 0,34$ экз., диарея телят продолжалась в среднем $4,1 \pm 0,43$ дней, интенсифицированность препарата составила 95,3 %.

2.2.5 Морфологические и биохимические показатели крови больных криптоспориديозом телят после применения различных схем лечения

Гематологические исследования показали, что в крови у больных криптоспориديозом телят наблюдается снижение количества эритроцитов, гемоглобина, с одновременным повышением числа лейкоцитов. В лейкограмме наблюдали увеличение количества нейтрофилов с ядерным сдвигом в «влево», а также умеренное увеличение моноцитов и эозинофилов.

Биохимическими исследованиями сывороток крови установили, что у спонтанно больных криптоспориديозом телят отмечается повышение количества АЛт, АСаТ, и креатинина, одновременное уменьшение количества глюкозы и альбуминов.

Было установлено, что после проведения лечебных мероприятий показатели крови в опытных группах возвращаются к пределам физиологических норм. При этом наиболее положительные сдвиги отмечали у животных второй опытной группы, которым применяли «Азитронит» и иммуностимулирующий препарат «Миксоферон», в сочетании с симптоматическим лечением.

2.3 Обсуждение результатов исследования

Изложено обсуждение результатов собственных исследований и данных литературы по эпизоотологии, диагностике, патоморфологии и лечению криптоспоридиоза телят.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

– Инвазированность телят криптоспоридиозом в Республике Татарстан составляет в среднем 44,9 %. Наименьшая степень заражения животных

криптоспоридиями (5,6-17,4 %) наблюдается в хозяйствах, где используют сменные профилактории, соблюдая систему «все пусто – все занято». В хозяйствах, где нарушена технология выращивания телят, количество зараженных животных колеблется в пределах 26,7-45,6 %. В крупных животноводческих комплексах, где нередко наблюдается антисанитарные условия содержания телят, отсутствие сменных профилакторий, отмечается высокая степень инвазированности молодняка криптоспоридиями (62,9-71,2 %).

Выделение ооцист криптоспоридий *C. parvum* начинается на 4 сутки после рождения телят (ЭИ – 14,5 %, ИИ – $1,2 \times 10^6 \pm 0,2$), максимального значения оно достигает на 9 сутки (ЭИ – 52,1 %, ИИ – $30,2 \times 10^6 \pm 1,75$), в последующем отмечается постепенное снижение их выделения, и через 33 дня ооцисты выделяются лишь у 5,2 % животных (ИИ - $0,03 \times 10^6 \pm 0,01$).

Максимальная степень заражения телят криптоспоридиозом наблюдается в марте месяце (ЭИ – 76,9 %), затем инвазированность животных постепенно снижается, достигая минимума в июне (ЭИ – 3,8 %), в последующем, в осенние и зимние месяцы, происходит повторное увеличение зараженности, достигая наивысшего значения в феврале (ЭИ - 62,8 %).

– Из копрологических методов наиболее высокой диагностической эффективностью обладает модифицированный нами седиментационный метод, где для суспензирования фекалий телят применяется молочная кислота.

Экспресс-тест H&R Crypto является специфичным и высокочувствительным методом, который за 10-15 мин позволяет диагностировать криптоспоридий в фекалиях телят и не требует дополнительного оборудования и специальных навыков исследующего.

– Патологический процесс при криптоспоридиозе вызывает выраженное проявление иенита, илеита, тифлита и колита. При остром течении инвазии в тонком отделе кишечника отмечаются признаки десквамативного катарального воспаления в апикальной области ворсинок, а в последующем и в их базальной части. В ободочном и слепом отделах кишечника начальные деструктивные изменения охватывают апикальные области крипт. При подостром течении болезни изменения в тонком и толстом кишечнике носят характер атрофического катара.

В острой стадии инвазии паразиты располагаются на поверхности энтероцитов тонкого и толстого кишечника, при подостром течении болезни они обнаруживаются преимущественно на эпителии крипт ободочной кишки.

В печени больных криптоспоридиозом телят наблюдаются признаки венозной гиперемии, белкового и жирового гепатоза, в почках – явления нефроза. В селезенке и в мезентеральных лимфатических узлах отмечается задержка формирования лимфоидных узелков.

– При криптоспориidioзе максимальной терапевтической эффективностью обладает новый отечественный препарат «Азитронит» в сочетании с Миксофероном (ЭЭ – 85,7 %, ИЭ – 97,4 %), диарея у телят продолжается не более 2-4 дней. В производственных условиях ЭЭ испытуемого препарата составляет 77,1 %, ИЭ – 95,3 %.

– «Азитронит» и иммуностимулирующий препарат «Миксоферон» в сочетании с симптоматическим лечением оказывают положительное действие на морфологические и биохимические показатели крови телят, увеличивая содержание гемоглобина и эритроцитов, повышая уровень глюкозы и альбуминовых фракций.

Практические предложения

Полученные результаты исследований использованы при разработке методических указаний – «Инновационные методы борьбы с криптоспориidioзом телят в Республике Татарстан» (Утв. ГУВ КМ РТ 2 июня 2016 г.), где отражены наиболее эффективные методы диагностики, лечения и профилактики криптоспориidioза телят.

Для диагностики криптоспориidioза рекомендуется использовать модифицированный седиментационный метод с применением 4% - ного раствора молочной кислоты (Акт внедрения рационализаторского предложения. № 484 от 21 декабря 2015 г.).

4 Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Кириллов, Е.Г. Общая характеристика криптоспориidioза / Е.Г. Кириллов // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины. – Казань. –2014. – Т. 218. – С. 128-131. *

2. Кириллов, Е.Г. Значение методов окрашивания ооцист при диагностике криптоспориidioза телят / Е.Г. Кириллов, Д.Г. Латыпов // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины. – Казань. – 2014. -Т. 218. – С. 131-135. *

3. Кириллов, Е.Г. Эпизоотология криптоспориidioза в республике Татарстан / Е.Г. Кириллов, Д.Г. Латыпов // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины. – Казань. – 2015. –Т. 223. – С. 93-96. *

4. Кириллов, Е.Г. Эффективность экспресс – теста при выявлении криптоспориидий в кале / Е.Г. Кириллов // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны».- СПб, Издательство ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ», 2015 г. – С. 112-114.

5. Кириллов, Е.Г. Эффективность различных лабораторных методов при диагностике криптоспориidioза телят / Е.Г. Кириллов, Д.Г. Латыпов // Материалы международной научно – практической конференции молодых

ученых и специалистов «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки», Секция 1: Научные и инновационные подходы в ветеринарной медицине, биологии и экологии, 16-17 декабря 2015 года. – Троицк: ЮУрГАУ, 2015. – С. 80-83.

6. Кириллов, Е.Г. Усовершенствование копроскопического метода диагностики криптоспориديоза телят / Е.Г. Кириллов, Д.Г. Латыпов // Ветеринарный врач. – 2016. – №1. – С. 43-47. *

7. Кириллов, Е.Г. Оценка терапевтической эффективности различных препаратов при криптоспоридиозе телят / Е.Г. Кириллов, Д.Г. Латыпов, И.Н. Залялов [и др.] // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины. – Казань. – 2016. – Т. 225. – С. 39-42.

8. Кириллов, Е.Г. Патоморфологические изменения в кишечнике телят больных спонтанной формой криптоспоридиоза / Е.Г. Кириллов, Д.Г. Латыпов, И.Н. Залялов // Актуальные вопросы развития современного общества: сборник научных статей по материалам I Международной научно-практической конференции. – Пермь. – 2016. – С. 52-55.

9. Кириллов, Е.Г. Патоморфологические изменения в печени телят больных спонтанной формой криптоспоридиоза / И.Г. Кириллов, Е.Г. Кириллов, И.Н. Залялов, Д.Г. Латыпов // Современные проблемы и тенденция развития агропромышленного комплекса. Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи. – Казань: ЦИТ КГАВМ, 2016. – С. 219-222.

10. Кириллов, Е.Г. Патогистологические изменения в кишечнике телят больных криптоспоридиозом / Е.Г. Кириллов, И.Н. Залялов, Д.Г. Латыпов [и др.] // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины. – Казань. – 2016. – Т. 226. – С. 86-90.

11. Кириллов, Е.Г. Патоморфологические изменения в тонкой кишке при криптоспоридиозе / Е.Г. Кириллов // Морфология. – Том. 149. – №3. – С. 103. *

12. Кириллов, Е.Г. Патоморфологические изменения в лимфоидных органах телят больных криптоспоридиозом / Е.Г. Кириллов, И.Н. Залялов, Д.Г. Латыпов // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины. – Казань. – 2016. – Т. 227. – С. 32-36.

13. Кириллов, Е.Г. Патоморфологические изменения в почках телят больных криптоспоридиозом / Е.Г. Кириллов, И.Н. Залялов, Д.Г. Латыпов // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины. – Казань. – 2016. – Т. 227. – С. 36-39.

*** - публикации в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях в соответствии с перечнем ВАК при Минобрнауки РФ**