



Научная статья

УДК 619:616.99

Изучение изменения биологических свойств полевых изолятов кокцидий кур в пределах Центрального округа Российской Федерации

Илья Михайлович Бирюков

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства (ВНИВИП) – филиал ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»

Аннотация: Проведено исследование по изучению биологических свойств полевых изолятов кокцидий кур, выделенных из образцов помета и подстилочного слоя от цыплят-бройлеров в возрасте 27-30 дней, предоставленных двумя птицеводческими комплексами, расположенными в Центральном округе Российской Федерации. Для типирования выделенных ооцист была проведена биологическая проба на восприимчивых цыплятах-бройлерах. Оба полевых изолята были представлены двумя видами эймерий: *E. acervulina* и *E. tenella*. Затем был проведен опыт по изучению вирулентных и патогенных свойств изолятов, а также изучение их репродуктивного потенциала. Анализ полученных данных указывает на то, что полевые изоляты кокцидий, полученные из общей географической территории, имеют различные биологические свойства, несмотря на то, что фауна двух изолятов представлена идентичными видами паразита. Различия в репродуктивном потенциале между двумя выделенными изолятами и аналогичными лабораторными штаммами хоть и минимальны, но все же указывают на то, что штаммы кокцидий, выделенные из одной географической зоны обитания, имеют разные биологические свойства.

Ключевые слова: кокцидиоз, полевые изоляты, ооцисты, цыплята, эймерии, *E. tenella*, *E. acervulina*, вирулентность, репродуктивный потенциал.

Для цитирования: Бирюков, И.М. Изучение изменения биологических свойств полевых изолятов кокцидий кур в пределах Центрального округа Российской Федерации / И.М. Бирюков // Птицеводство. – 2023. – №10. – С. 83-88.

doi: 10.33845/0033-3239-2022-72-10-83-88

Введение. За последнее десятилетие глобализация экономики России привела к тому, что сельское хозяйство получило новые векторы развития, направленные на снижение импортозависимости, улучшение продовольственной безопасности и рост внутреннего оборота сельскохозяйственной продукции.

Главенствующую ступень в решении вопросов продовольственных нужд страны и производства высококачественных продуктов питания отводят животноводческой отрасли. Среди основных подсекторов животноводства страны на сегодняшний день только птицеводческая промышленность

в полном объеме способна в короткие сроки обеспечить население высококачественными диетическими продуктами питания, а также снизить импортозависимость.

В связи со значительным увеличением спроса на продукцию птицеводства, были внедрены новые стратегии содержания птицы, направленные на интенсификацию промышленного птицеводства. Однако, несмотря на положительные моменты нововведений, параллельно увеличивается целый ряд нерешенных задач. Одной из основных проблем современного птицеводства является риск возникновения масштабных вспы-

шек кишечных заболеваний как бактериальной, так и инвазионной этиологии.

Наиболее часто регистрирующимся инвазионным заболеванием среди сельскохозяйственной птицы является кокцидиоз. На сегодняшний день затраты мировой экономики на борьбу с кокцидиозом можно представить следующим образом: до 80% – затраты, направленные на восстановление потерь от снижения конверсии корма и продуктивности на фоне устойчивости паразита к применяемым кокцидиостатикам, а остальное – затраты на профилактику заболевания [1]. Ежегодные общемировые экономические потери



от эймериоза составляют 13 млрд. долларов США [2].

Сейчас принято считать, что кокцидиоз – патология не только тех органов и тканей, где происходит эндогенная фаза развития паразита, но и нарушение гомеостаза макроорганизма в целом.

Из 9 описанных видов кокцидий кур только 7 являются общепризнанными – *Eimeria acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* и *E. tenella*, а с учетом степени патогенности наибольшую опасность для птицеводства представляют *E. tenella*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. acervulina* [3,4].

Главной особенностью простейших рода *Eimeria* является строгая видоспецифичность и в отношении своего хозяина, и в отношении места локализации в его организме, что способствует паразитированию нескольких видов кокцидий в одном организме [5]. Но все же вопрос изменения видоспецифичности кокцидий остается открытым.

Основные мониторинговые исследования полевых изолятов кокцидий в большей степени направлены на определение давления паразита на птицеводческое хозяйство и чувствительности к эймериостатикам. И практически нет исследований, в которых бы описывались изменения биологических свойств полевых изолятов кокцидий, присутствующих в том или ином хозяйстве. Поэтому проблема изменения биологических свойств паразита очень важна, тем более, что она тесно связана с внутривидовой изменчивостью кокцидий, которая напрямую зависит от их географического распространения, даже в пределах района, области или региона. Изменение биологических свойств

одного вида кокцидий или нескольких имеет и практическое значение. Ведь при составлении лечебно-профилактических программ против кокцидиоза, в которые входит применение эймериостатиков, стоит учитывать вирулентные, патогенные, репродуктивные свойства полевых штаммов, а при дополнительном введении иммунопрофилактики особое внимание уделяется иммуногенным свойствам кокцидий.

Кроме того, знания о стабильности или изменчивости биологических свойств полевых культур кокцидий способствуют усовершенствованию стратегий борьбы с этим паразитом путем создания иммунопрофилактических средств, которые будут оптимально подходить для конкретных птицеводств.

Материал и методика исследований. Работа проведена в условиях отдела паразитологии и вивария ВНИВИП. Материалом послужили помет и подстилочный слой, предоставленные двумя птицеводческими комплексами из Брянской (полевой изолят №1) и Калужской (полевой изолят №2) областей от птицепоголовья бройлеров в возрасте 27-30 дней. Диагностику и изучение биологических свойств полевых изолятов кокцидий проводили в соответствии с ГОСТ 25383-82 (СТ СЭВ 2547-80) «Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики кокцидиоза» (с Изменением №1) и методиками, разработанными в отделе паразитологии ВНИВИП.

При выделении и микроскопировании обоих полевых изолятов кокцидий были обнаружены ооцисты с деформацией как внутреннего содержимого (протоплазматическая масса, спороцисты), так и внешних защитных барьеров

(оболочка). Наличие у ооцист деформаций является показателем возможного воздействия химических соединений, таких как кокцидиостатики, или веществ, способных контролировать влажность подстилочного слоя в птичнике. Но и технология выращивания птицепоголовья также способна в той или иной степени воздействовать на ооцисту. При любом воздействии на ооцисту происходит изменение основных биологических свойств паразита, будь то вирулентные, патогенные или репродуктивные свойства.

Поскольку выделенные ооцисты полевых изолятов кокцидий представляли собой деформированные формы, что затруднило их предварительное типирование, возникла необходимость в их дополнительном мультиплицировании, что подразумевает постановку биологической пробы. При постановке биопробы с целью типирования ооцист полевых изолятов кокцидий учитывалось место локализации паразита в кишечнике хозяина и его препотентный период развития.

Биопробы проводились по следующей схеме: формировалась группа из 5 голов невакцинированных цыплят-бройлеров, которые до 16-дневного возраста выращивались в условиях вивария ВНИВИП, исключая их спонтанное заражение кокцидиозом. В 16-дневном возрасте птицу заражали в зоб смесью кокцидий, выделенных из полученного для исследования биоматериала, дозированной, способной вызвать субклинический кокцидиоз с минимальными патологоанатомическими признаками; в данном случае была выбрана заражающая доза 500 тыс. ооцист/голове.



С целью типирования ооцист полевых изолятов кокцидий и определения продолжительности эндогенного периода развития производили вынужденный убой, диагностическое вскрытие по 1 голове на 4-е, 5-е, 6-е и 7-е сутки после заражения (в зависимости от вида и продолжительности эндогенного периода развития паразита). Параллельно проводили микроскопию содержимого кишечника и его слизистой оболочки.

Для изучения вирулентных (определение LD_{50}) и патогенных свойств был проведен один опыт по следующей схеме: были сформированы пять опытных групп и одна контрольная по 5 цыплят 14-дневного возраста, выращенных в условиях, исключающих их спонтанное заражение кокцидиями. Группы 2-6 заражали в зоб спорулированными ооцистами полевых изолятов №1 и №2 в разных дозах, с одинаковым интервалом в 400 тыс. ооцист, начиная с 500 тыс. ооцист/гол и заканчивая 2100 тыс. ооцист/голову.

Определение степени вирулентности смеси культур кокцидий проводили по методу Кербера и вычисляли LD_{50} по формуле:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum zd}{M},$$

где LD_{100} – доза ооцист, которая вызвала падеж всех животных в группе; Z – среднее арифметическое из числа павших от кокцидиоза от смежных доз; d – интервал между смежными дозами; M – число животных в группе.

Определение степени патогенного давления кокцидий проводилось с учетом клинических признаков и патологоанатомических поражений кишечника (локализация и характер поражений,

степень поражений «в крестах», т.е. -, ±, +, ++, +++, +++++).

Репродуктивный потенциал полевых изолятов кокцидий определяли по методу Диковской В.Е., путем подсчета общего количества ооцист, выделенных за 5 суток патентного периода каждой группой птиц. Для этого было сформировано две опытные группы и одна контрольная по 6 цыплят 14-дневного возраста. Репродуктивный индекс рассчитывали по формуле:

$$РИ = \frac{\text{(количество ооцист, выделенных одним цыпленком за патентный период)}}{\text{доза заражения}}$$

Группу 2 инвазировали спорулированными ооцистами полевого изолята №1; группу 3 – ооцистами полевого изолята №2; группа 1 заражалась ооцистами лабораторных штаммов культур кокцидий. Доза заражения для каждой группы составляла 100 тыс. ооцист/гол. С 4 по 8 день после заражения собирали помет от групп 1-3 в тары идентичного объема и доводили до 6 л водопроводной водой. Водный раствор помета тщательно гомогенизировали в течение 1 ч. Длительная гомогенизация позволяет равномерно распределить ооцисты кокцидий в толще гомогенной массы, что улучшает качество проведения подсчета ооцист. Из каждой емкости была взята средняя проба во время размешивания в объеме 50 мл. Среднюю пробу размешивали на магнитной мешалке в течение 10 мин. Проводили подсчет количества ооцист в камере Горяева (подсчет в 4 полях для каждой пробы).

Результаты исследования и их обсуждение. В результате проведения биопробы полевого изолята кокцидий №1 и диагностического вскрытия вынужденно убитой птицы на 96-100 часы после

заражения (чпз) патологоанатомических изменений верхней части тонкого отдела кишечника, ограничивающейся петлей 12-перстной кишки, не зафиксировано. При микроскопии соскобов со слизистой оболочки обнаружены единичные шизонты. При вскрытии птицы на 114-117 чпз была зафиксирована отечность слизистой оболочки 12-перстной кишки. При микроскопии соскобов со слизистой обнаружены незрелые ооцисты.

На 120-122 чпз (пятые сутки) при патологоанатомическом вскрытии на слизистой оболочке слепых отростков кишечника обнаружены единичные кровоизлияния, стенки не утолщены. При микроскопии соскобов со слизистой слепых отростков на 120 чпз обнаружены шизонты, на 123-125 чпз – единичные незрелые ооцисты. В период 96-148 чпз при диагностическом вскрытии вынужденно убитой птицы не были зафиксированы патологоанатомические изменения средней части тонкого отдела кишечника и нижней части толстого отдела.

В результате проведения биопробы полевого изолята кокцидий №2 и диагностического вскрытия вынужденно убитой птицы на 96-100 чпз была зафиксирована отечность слизистой оболочки 12-перстной кишки, на поверхности слизистой поражения в виде единичных петехий белого цвета. При микроскопии соскобов со слизистой обнаружены многочисленные скопления ооцист. При вскрытии птицы на 120-122 чпз утолщение стенок слепых отростков не зафиксированы, имелись единичные точечные кровоизлияния. При микроскопии содержимого слепых отростков обнаружены неинвазионные формы ооцист.



Таблица 1. Результаты изучения вирулентных свойств полевого изолята №1

№ п/п	Доза ооцист, тыс./гол.	Кол. голов	Пало	z	d	Клинические признаки и патологоанатомические изменения у цыплят бройлеров
1	0	5	0	-	-	Клинические признаки отсутствуют; помет без видимых изменений (чистый контроль)
2	500 тыс.	5	0	-	400	Цыплята клинически здоровы, в помете кровь не обнаружена.
3	900 тыс.	5	1	0,5	400	Угнетение, частичный отказ от корма; слизистая оболочка 12-перстной кишки отечна, на ее поверхности единичные беловатые петехии; на слизистой оболочке слепых отростков единичные кровоизлияния, стенки не утолщены, содержимое в норме. Степень патогенного давления – «+»
4	1300 тыс.	5	2	1,5	400	Угнетение, отказ от корма, повышенная жажда, кровь в помете; стенка слепой кишки утолщена, на слизистой оболочке кровоизлияния, содержимое в норме; слизистая оболочка 12-перстной кишки отечна, на ее поверхности количество петехий увеличено, содержимое в норме. Степень патогенного давления – «++»
5	1700 тыс.	5	3	2,5	400	Угнетение, отказ от корма и воды, кровь в помете, помет жидкой консистенции; многочисленные поражения 12-перстной кишки, обволакивающие слизистую оболочку, содержимое водянистое; стенки слепых отростков значительно утолщены, на поверхности слизистой оболочки многочисленные кровоизлияния, в содержимом сгустки крови. Степень патогенного давления – «+++»
6	2100 тыс.	5	5	4	400	Гибель птицы; кровь в помете; слепые отростки сильно увеличены и геморрагичны, а также наполнены свернувшейся кровью; 12-перстная кишка сильно отечна, полное слияние поврежденных в белую обволакивающую пленку. Степень патогенного давления – «++++»

$$LD_{50} = 2100 - (0,5 + 1,5 + 2,5 + 4) \times 400 / 5 = 2100 - 680 = 1420 \text{ тыс.}$$

В период 96-148 чпз не было зафиксировано патологоанатомических изменений средней части тонкого отдела кишечника и нижней части толстого отдела.

В результате проведения биопроб и диагностического вскрытия вынужденно убитой птицы, с учетом поражения верхней части тонкого отдела кишечника и слепых отростков, был сделан вывод, что кокцидийная фауна обоих полевых изолятов представлена идентичными видами паразита: *E. acervulina* и *E. tenella*.

Стоит отметить тот факт, что препотентный период развития *E. acervulina*, входящей в состав полевого изолята №1, увеличился на 18 ч, а препотентный период *E. tenella* – на 3 ч в сравнении с препотентными периодами гомологичных вакцинных лабораторных штаммов отдела паразитологии ВНИВИП. Препотентные периоды штаммов кокцидий, входящих в состав полевого изолята №2, совпадают с литературными данными и с препотентными

периодами гомологичных вакцинных лабораторных штаммов отдела паразитологии ВНИВИП.

Результаты изучения вирулентных свойств полевых изолятов кокцидий №1 и №2, клинических признаков и патологоанатомических изменений представлены в табл. 1 и 2. Было установлено, что LD_{50} полевого изолята кокцидий №1 составляет 1420 тыс. ооцист на голову с летальностью 20%, LD_{50} полевого изолята №2 – 1700 тыс. ооцист на голову с летальностью 40%.

Первые клинические признаки и патологические изменения начали проявляться с дозировки 900 тыс. ооцист на голову у полевого изолята №1 и 1300 тыс. ооцист на голову у полевого изолята №2. При этом стоит учитывать, что в обоих изолятах присутствует *E. tenella*, которая является одним из самых патогенных видов эймерий. Поэтому, опираясь на вышеперечисленные данные, полевые изоляты культур кокцидий можно охарактеризовать как слабовирулентные.

Результаты изучения репродуктивного потенциала полевых изолятов кокцидий представлены в табл. 3. Исходя из полученных данных, при дозе заражения 100 тыс. ооцист на голову репродуктивная способность полевых изолятов кокцидий оказалась неодинакова, хотя оба выделенных изолята можно отнести к общей зоне географического распространения. Репродуктивность полевого изолята №2 (PI=2897) после пассажирирования в лабораторных условиях превышала репродуктивность изолята №1 (PI=1857) в 1,56 раза. Таким образом, оба изолята можно отнести к среднерепродуктивным.

Заключение. Анализ полученных данных указывает на то, что полевые изоляты кокцидий, полученные из общей географической территории, имеют различные биологические свойства. Несмотря на то, что фауна двух полевых изолятов представлена идентичными видами паразита (*E. acervulina* и *E. tenella*), имеются



Таблица 2. Результаты изучения вирулентных свойств полевого изолята №2

№ п/п	Доза ооцист на голову, тыс.	Кол. голов	Пало	z	d	Клинические признаки и патологоанатомические изменения у цыплят бройлеров
1	0	5	0	-	-	Клинические признаки отсутствуют; помет без видимых изменений (чистый контроль)
2	500 тыс.	5	0	-	400	Цыплята клинически здоровы, в помете кровь не обнаружена.
3	900 тыс.	5	0	-	400	Цыплята клинически здоровы, в помете кровь не обнаружена.
4	1300 тыс.	5	1	0,5	400	Угнетение, частичный отказ от корма; слизистая оболочка 12-перстной кишки отечна, на ее поверхности имеются поражения в виде поперечных полос белого цвета; на слизистой оболочке слепых отростков единичные кровоизлияния, стенки не утолщены, содержимое в норме. Степень патогенного давления – «+»
5	1700 тыс.	5	2	1,5	400	Угнетение, отказ от корма, повышенная жажда, кровь в помете; стенка слепой кишки утолщена, на слизистой оболочке множественные кровоизлияния, содержимое в норме; слизистая оболочка 12-перстной кишки отечна, на ее поверхности количество петехий увеличено, содержимое в норме. Степень патогенного давления – «++»
6	2100 тыс.	5	4	3	400	Значительная гибель птицы, кровь в помете, помет жидкой консистенции; многочисленные поражения 12-перстной кишки, обволакивающие слизистую оболочку, содержимое водянистое; стенки слепых отростков значительно утолщены, слизистая оболочка подвержена эрозиям, в содержимом сгустки крови. Степень патогенного давления – «+++»

$$LD_{50} = 2100 - (0,5 + 1,5 + 3) \times 400 / 5 = 2100 - 400 = 1700 \text{ тыс.}$$

Таблица 3. Результаты изучения репродуктивного потенциала полевых изолятов кокцидий

№ п/п	Наименование группы	Кол. голов		Выделено ооцист группой цыплят за 5 дней потенциального периода	Выделено ооцист одним цыпленком за 5 дней потенциального периода	Репродуктивный индекс
		в начале опыта	в конце опыта			
1	Изолят №1	6	6	1 114 395 493	185 732 582	1 857
2	Изолят №2	6	6	1 738 423 362	289 737 227	2 897

различия в препотентном периоде развития кокцидий полевого изолята №1 в сравнении с препотентным периодом развития изолята №2 и лабораторных штаммов отдела паразитологии ВНИВИП.

Изменение препотентного периода развития может привести к получению недостоверных результатов при диагностике заболевания.

Полученные результаты указывают на то, что полевые изоляты

относятся к слабовирулентным, но изолят №1 проявляет более выраженное паразитарное давление на птицу, чем изолят №2.

Поскольку в состав обоих изолятов входит *E. tenella*, являющаяся вирулентным видом, а оба изолята являются слабовирулентными, это может указывать на изменение патогенных и вирулентных свойств, по крайней мере, одного из штаммов, входящего в состав полевых изолятов кокцидий.

Различия в репродуктивном потенциале между двумя выделенными изолятами хоть и минимальны, но все же указывают на то, что штаммы кокцидий, выделенные из одной географической зоны обитания, имеют разный уровень репродукции. К тому же, снижение репродуктивной активности полевого изолята №1 указывает на начальные этапы возвращения исходных биологических свойств штаммов кокцидий, входящих в его состав.

Литература / References

- Williams, R.B. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the World's chicken production industry / R.B. Williams // Intl. J. Parasitol. - 1999. - V. 29. - No 8. - P. 1209-1229. doi: 10.1016/S0020-7519(99)00086-7
- Blake, D.P. Re-calculating the cost of coccidiosis in chickens / D.P. Blake, J. Knox, B. Dehaeck, B. Huntington, T. Rathinam, V. Ravipati, S. Ayode, W. Gilbert, A.O. Adebambo, I.D. Jatau, M. Raman, D. Parker, J. Rushton, F.M. Tomley // Vet. Res. - 2020. - V. 51. - No 1. - P. 115. doi: 10.1186/s13567-020-00837-2

3. Biryukov, I. The effects of vaccination on the subsequent sensibility of eimerias to coccidiostatics / I. Biryukov, E. Simonova // Proc. Intl. Conf. "Fundamental and Applied Scientific Research in the Development of Agriculture in the Far East", Ussuriysk, July 21-22, 2021. - Agricultural Innovation Systems ser. - 2022. - V. 354. - Pt. 2. - P. 769-777. doi: 10.1007/978-3-030-91405-9_85
4. Price, K.R. Use of live vaccines for coccidiosis control in replacement layer pullets / K.R. Price // J. Appl. Poult. Res. - 2012. - V. 21. - No 3. - P. 679-692. doi: 10.3382/japr.2011-00486
5. Бирюков, И.М. Сравнительная оценка применения аттенуированных штаммов культур кокцидий и кокцидиостатиков разных классов / И.М. Бирюков, Е.А. Симонова, В.М. Разбицкий // Птицеводство. - 2019. - №11-12. - С. 100-104. doi: 10.33845/0033-3239-2019-68-11-12-100-104

Сведения об авторе:

Бирюков И.М.: научный сотрудник отдела паразитологии; i_biryukov88@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 29.07.2023; одобрена после рецензирования 22.08.2023; принята к публикации 23.09.2023.



Research article

Differences in the Biological Properties of the Two Chicken Coccidia Field Isolates from the Central District of Russian Federation

Ilya M. Biryukov

All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science – branch of the Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry"

Abstract. A study of biological properties of field isolates of chicken coccidia isolated from manure and litter from broiler chicks aged 27-30 days provided by two large poultry farms located in the Central District of Russian Federation was performed. For identification of isolated oocysts a biological test was carried out on susceptible broiler chicks; it was found that both field isolates contained two Eimeria species: *E. acervulina* and *E. tenella*. Then an experiment was carried out to study the virulent and pathogenic properties and reproductive ability of the isolates. Analysis of the data obtained indicated that field isolates of coccidia obtained from a common geographical area have different biological properties, despite the fact that these isolates contained identical parasite species. Differences in reproductive ability between these two field isolates and laboratory strains of these species, although minimal, still indicate that strains of coccidia isolated from the same geographical habitat can differ in their biological properties.

Keywords: coccidiosis, field isolates, oocysts, chicks, *Eimeria*, *E. tenella*, *E. acervulina*, virulence, reproductive ability.

For Citation: Biryukov I.M. (2023) Differences in the biological properties of the two chicken coccidia field isolates from the Central District of Russian Federation. *Ptitsevodstvo*, 72(10): 83-88. (in Russ.)
doi: 10.33845/0033-3239-2022-72-10-83-88

(For references see above)

Author:

Бирюков И.М.: Research Officer, Dept. of Parasitology; i_biryukov88@mail.ru.
Submitted 29.07.2023; revised 22.08.2023; accepted 23.09.2023.

© Бирюков И.М., 2023