



# Тест на чувствительность к кокцидиостатикам как один из методов диагностики и борьбы с кокцидиозом птиц

**Бирюков И.М.**, научный сотрудник отдела паразитологии

**Симонова Е.А.**, научный сотрудник отдела паразитологии

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства (ВНИВИП) – филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН, г. Санкт-Петербург

**Аннотация:** Одной из самых распространенных проблем в современном птицеводстве является кокцидиоз. Введение в состав рациона птицы кокцидиостатических препаратов оказалось ценным инструментом в профилактике кокцидиоза. Однако известно, что длительное воздействие препарата на паразитов снижает его антиэймериозную активность, или вовсе вызывает адаптацию к нему. Существует только один диагностический инструмент, позволяющий предсказать развитие адаптивных свойств у кокцидий и восстановить их лекарственную чувствительность к антикокцидийным препаратам – AST (anticoccidial sensitivity test), тест на чувствительность к кокцидиостатикам, разработанный учеными ВНИВИП. Тест на чувствительность к эймериостатическим препаратам, помимо контроля уровня устойчивости к ним кокцидий, позволяет определить видовой состав полевых штаммов эймерий, их патогенность, а также позволяет определить цифровой показатель, отражающий паразитарное давление на зоотехнические показатели птицеводства. Кокцидиостатические свойства препаратов проверяют на цыплятах 12-14-суточного возраста. В исследование включается минимум три группы цыплят от 5 до 12 голов в каждой. При определении показателя чувствительности к эймериостатикам во внимание берут процентное различие в привесах и процент выживаемости цыплят в контрольных и опытных группах. Активность препарата выражают в баллах: чем больше величина показателя, тем выше его антикокцидийная эффективность. Одним из главных положительных моментов является то, что AST-тест дает количественную характеристику степени развития лекарственной устойчивости эймерий. Это позволяет более точно скорректировать химиопрофилактические мероприятия при кокцидиозе.

**Ключевые слова:** кокцидиоз, эймерии, цыплята, кокцидиостатики, лекарственная устойчивость, тест на чувствительность к кокцидиостатикам.

**Введение.** Существует достаточно много видов простейших, хозяевами которых являются птицы. Особый интерес для птицеводства представляют простейшие рода *Eimeria*, которые вызывают кокцидиоз. Основной особенностью кокцидиоза кур является его двойное воздействие на организм птицы.

Прямое воздействие эймерий заключается в поражении пищеварительного тракта, вызывающем деструктивные изменения в слизистом слое кишечника, часто со-

провождающиеся воспалительными процессами, приводящими к нарушению обмена веществ, снижению привесов и эффективности конверсии корма. Таким образом, заболевание связано с высокими производственными потерями, высокой (более 50%) смертностью [1].

Помимо прямого действия кокцидий на пищеварительный тракт, существует также косвенное воздействие, приводящее к заселению организма различной патогенной микрофлорой, такой как *Clostridium perfringens*, *Sal-*

*monella typhimurium* или *Escherichia coli* [2,3].

Серьезные вспышки кокцидиоза возникают, в первую очередь, в связи с условиями содержания и откорма птицы. Строгое соблюдение зоогигиенических мер и постоянная санитарная уборка птичников хотя и уменьшают возможность возникновения кокцидиозной инвазии, но не всегда предотвращают вспышки кокцидиоза. Рентабельное производство мясной продукции птицеводства в современном масштабе



без профилактического применения кокцидиостатиков, несомненно, практически невозможно.

Ассоциативно с кокцидиозом могут протекать инфекционные заболевания, тормозящие формирование иммунного ответа, что приводит к усилению тяжести заболевания. Например, болезнь Марека препятствует развитию иммунитета к кокцидиозу, что приводит к высокому проценту гибели птицы, а инфекционный бурсит снижает антиэймериозную активность препаратов [4].

Кокцидиоз как проблема появился в 1930-е гг., и спустя десять лет практические птицеводы пришли к убеждению, что превентивное применение кокцидиостатических препаратов, в конечном итоге, выгоднее, чем терапия уже заболевшего стада.

Несмотря на то, что для борьбы с этим заболеванием было разработано и внедрено огромное множество антикокцидийных препаратов, кокцидиоз остается одной из главных экономических угроз для птицеводческой отрасли во всем мире.

Введение в состав рациона кормления птиц антиэймериозных препаратов, таких как ионофоры или синтетические кокцидиостатики, оказалось ценным инструментом в профилактике кокцидиоза [5]. Однако известно, что длительное воздействие препарата на паразитов снижает его антиэймериозную активность, или вовсе вызывает адаптацию к нему [6].

Чтобы избежать феномена лекарственной устойчивости и восстановить чувствительность эймерий к эймериостатикам, необходимо разработать долгосрочную стратегическую систему контроля кокцидиоза с использованием

всех видов противоккокцидийных препаратов и биологических агентов, применяемых с целью иммунопрофилактики этой инвазии. Но даже в этом случае специалистам птицеводческих хозяйств необходимо знать, какие противоккокцидийные препараты будут наиболее эффективны против кокцидиозной инфекции в конкретном хозяйстве. Эта информация не только поможет контролировать возможные вспышки кокцидиоза, но и исключать из ротационных программ препараты, которые утратили свою активность по отношению к кокцидиям, что поможет снизить экономические затраты, направленные на борьбу с кокцидиозом.

Существует только один диагностический инструмент, позволяющий предсказать развитие адаптивных свойств у кокцидий и восстановить их лекарственную чувствительность к антикокцидийным препаратам – AST (anticoccidial sensitivity test), тест на чувствительность к кокцидиостатикам.

Тест на чувствительность к эймериостатическим препаратам, помимо контроля уровня устойчивости кокцидий к препаратам, позволяет определить видовой состав полевых штаммов эймерий, их патогенность, а также позволяет количественно оценить паразитарное давление на зоотехнические показатели птицеводства [7].

Термин «AST (anticoccidial sensitivity test)» напрямую связан с термином «противоккокцидийный индекс» (ПКИ). ПКИ – это цифровой показатель, который объединяет основные наблюдения и измерения с оценкой степени кокцидиозной инвазии у особей, искусственно зараженных в лабораторных условиях. Это дает ос-

нование для обоснованной коррекции лечебно-профилактических мероприятий, направленных на своевременное купирование вспышек заболевания.

Во избежание всевозможного рода ошибок при тестировании препаратов стоит подробно рассмотреть принцип выполнения AST-теста, разработанного учеными ВНИВИП, которые до сих пор успешно применяют его при изучении изменения уровня лекарственной чувствительности кокцидий в птицеводческих хозяйствах не только на территории РФ, но и ближнего зарубежья.

Стоит отметить, что данный диагностический метод рекомендуется применять не только в отношении кокцидиоза кур, но и при кокцидиозах других видов птиц и млекопитающих.

**Принцип постановки AST-теста.** Основным принципом проведения AST-теста является то, что он не может быть выполнен *in vitro* – вне естественной среды обитания паразита. Это связано с тем, что простейшие рода *Eimeria* неспособны завершить свой жизненный цикл развития вне организма хозяина. Кроме того, используемые кокцидиостатики разных классов действуют на различных стадиях жизненного цикла развития кокцидий.

Следовательно, AST-тест выполняется только *in vivo* – на животных или птице, что делает его в определенной степени более трудоемким и дорогостоящим по сравнению с тестированием *in vitro*.

**Получение полевых штаммов эймерий.** Виды эймерий, паразитирующие в организме кур, морфологически отличаются друг от друга, различаются по продолжительности препатентно-



го и патентного периодов, локализацией в участках кишечника, по иммунобиологическим свойствам и степени устойчивости к химиопрепаратам. В природных условиях, как правило, встречается мультиинвазия, и поэтому штаммы эймерий, выделенные в разный период времени и из разных географических точек, будут не идентичны как по видовому разнообразию кокцидий, так и по присущим им свойствам.

Чтобы избежать получения недостоверных данных, стоит обращать внимание на то, из чего состоит общая проба, точнее, какие площадки входят в птицеводческое хозяйство, и как они располагаются по отношению друг к другу. Ведь многие крупные птицеводческие комплексы имеют не одну площадку, а несколько, которые располагаются на значительном удалении друг от друга, и, соответственно, могут различаться по составу паразитофауны и уровню ее чувствительности к одним и тем же препаратам.

Из свежеполученных образцов выделяют и идентифицируют культуру эймерий по методикам, прописанным в ГОСТ 25383-82 (СТ СЭВ 2547-80). «Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики кокцидиоза» (с Изм. №1).

Для аккумуляции ооцист кокцидий в количестве, необходимом для проведения AST-теста и подтитровки LD<sub>50</sub>, проводят дополнительное мультиплицирование паразита на интактной птице.

#### Подготовка групп птицы.

Кокцидиостатические свойства препаратов проверяют на цыплятах 12-14-суточного возраста, выращенных в лабораторных условиях, препятствующих самопроиз-

вольному инвазированию кокцидиями. В исследование включаются минимум три группы от 5 до 12 голов в каждой: 1 группа – интактный (чистый) контроль; 2 группа – инвазированный (зараженный) контроль, где цыплят заражают кокцидиями в дозе LD<sub>50</sub> без ввода в рацион эймериостатиков; 3 группа – инвазированная опытная группа, где цыплят заражают кокцидиями в дозе LD<sub>50</sub> и вводят в рацион тестируемый эймериостатик.

При проведении исследований по вышеизложенной схеме количество опытных групп цыплят, на которых тестируются разные химиопрепараты в различных дозировках, может быть увеличено, контрольные группы остаются теми же.

Всю птицу взвешивают до и после исследования.

**Оценка антиэймериозной активности тестируемых препаратов.** При определении чувствительности к эймериостатикам во внимание берут процентное различие в привесах и процент выживаемости цыплят в контрольных и опытных группах цыплят.

Продолжительность постановки теста будет зависеть от видового состава изучаемой культуры кокцидий. Это обуславливается особенностями эндогенных стадий развития паразитов. Развитие эймерий в организме хозяина имеет строго ограниченные временные рамки, поэтому временной промежуток постановки теста может варьировать от 8 до 10 суток, иногда до 11.

Самые основные специфические патологические изменения при кокцидиозе кур проявляются на последней стадии агамогонии, за сутки до начала гамогонии и формирования ооцист. Как пра-

вило, высокой активностью обладают те препараты, которые направлены на подавление развития агамных генераций паразита, поэтому вынужденный убой птицы в ходе опыта также является одним из инструментов определения активности кокцидиостатических препаратов.

Рациональнее эффективность лекарственных средств оценивать по противоккокцидийному (противоэймериозному) индексу ПКИ. Как было сказано выше, ПКИ – это количественный (цифровой) показатель, который отражает различия летальности и привесов у цыплят контрольных групп и групп, которым задавали препараты. Он рассчитывается по следующей формуле:

$$\text{ПКИ (баллы)} = \text{ПВ}_0 + (\text{ПП}_0 / \text{ПП}_{\text{нк}}) \times 100,$$

где ПВ<sub>0</sub> – процент выживаемости цыплят в опытной группе, получавшей препарат, ПП<sub>0</sub> и ПП<sub>нк</sub> – процент привеса цыплят в опытной и незараженной контрольной группах соответственно. Этот процент привеса рассчитывается как разность живой массы цыплят в группе в начале и конце опыта, отнесенная к живой массе в конце опыта и умноженная на 100:

$$\text{ПП} = [(\text{ЖМ}_n - \text{ЖМ}_k) / \text{ЖМ}_k] \times 100.$$

**Интерпретация результатов теста.** Активность препарата выражают в баллах: чем больше величина показателя, тем выше антикокцидийная эффективность соединений.

У «идеального» кокцидиостатического препарата, полностью предупреждающего у цыплят гибель (ПВ<sub>0</sub> = 100%) и потерю при-



весов ( $ПП_0 = ПП_{нк}$ ), будет наивысшая для «чистого» кокцидиостатика оценка эффективности, равная 200 баллам. Таким образом, оптимальным противоккокцидийным средством нужно считать препарат, ПКИ которого равняется или максимально приближено к этому значению. В том случае, если тестируемый препарат, помимо кокцидиостатических свойств, обладает также свойствами, стимулирующими прирост живой массы, значение ПКИ может быть даже выше 200 баллов.

Если ПКИ химиотерапевтических средств 180 и выше баллов, то это говорит о высокой эффективности препарата и указывает на отсутствие признаков устойчивости к нему эймерий. Если ПКИ колеблется в пределах 160-120 баллов, то тестируемые препараты относят к группе средней активности, а у исследуемых культур кокцидий проявляются начальные признаки лекарственной устойчивости.

Если противоккокцидийная активность препарата меньше 120 баллов, то это свидетельствует о низкой степени эффективности кокцидиостатика и высоком уровне развития резистентности к препарату.

**Заключение.** Исходя из вышесказанного, тест на чувствительность к кокцидиостатикам имеет как положительные стороны, так и недостатки.

Единственным отрицательным моментом является то, что его проведение – это трудоемкий и длительный процесс, но при составлении долгосрочных стратегических программ по профилактике и борьбе с кокцидиозом он быстро себя окупает, так как на сегодняшний момент является единственным инструментом,

предсказывающим развитие у кокцидий устойчивости к химиотерапевтическим препаратам.

Одним из главных положительных моментов является то, что AST-тест дает количественную характеристику лекарственной устойчивости эймерий. Это позволяет более точно скорректировать химиофилактические мероприятия при кокцидиозе. Благодаря балльной системе учета (ПКИ), тестируемые препараты в зависимости от их активности можно разделить на группы: высокоактивные препараты, препараты средней активности, препараты риска, что упрощает составление плана ротации препаратов и указывает на то, в какой период откорма птицы вводить тот или иной кокцидиостатик, или же на необходимость отказаться от применения препарата на определенное время.

Помимо этого, за счет AST-теста параллельно можно отслеживать уровень восстановления лекарственной чувствительности, если в ротационную программу была введена вакцинопрофилактика. Ведь вакцинные штаммы кокцидий начинают конкурировать или скрещиваться с уже имеющимся паразитарным фоном кокцидий, что приводит к появлению изолятов, чувствительных к препаратам [8].

Стоит отметить также то, что при постановке AST-теста имеется возможность провести полноценную диагностику экзогенных и эндогенных стадий кокцидий, что более точно характеризует степень давления паразитофауны в хозяйстве.

#### Литература

1. Ojmelukwe A.E., Emedhem D.E., Agu G.O., Nduka F.O., Abah A.E. Populations of *Eimeria tenella* express resistance to commonly used anticoccidial drugs

in southern Nigeria // Intl. J. Vet. Sci. Med. - 2018. - V. 6, No 2. - P. 192-200.

2. Macdonald S.E., Nolan M.J., Harman K., Boulton K., Hume D.A. [et al.] // Effects of *Eimeria tenella* infection on chicken caecal microbiome diversity, exploring variation associated with severity of pathology // PLoS One. - 2017. - V. 12, No 9. - P. e0184890.

3. Nakamura K., Isobe T., Narita M. Dual infections of *Eimeria tenella* and *Escherichia coli* in chickens // Res. Vet. Sci. - 1990. - V. 49, No 1. - P. 125-126.

4. McDougald L.R., Cervantes H.M., Jenkins M.C., Hess M., Beckstead R. Protozoal Infections // Diseases of Poultry; Swayne D.E., Boulianne M., Logue C.M., McDougald L.R., Nair V. [et al.], Eds. - Wiley & Sons, 2019. - P. 1192-1254.

5. Noack S., Chapman H.D., Selzer P.M. Anticoccidial drugs of the livestock industry // Parasitol. Res. - 2019. - V. 118, No 7. - P. 2009-2026.

6. Peek H.W., Landman W.J.M. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies // Vet. Quart. - 2011. - V. 31, No 3. - P. 143-161.

7. Marien M., De Gussem M., Vancraeynest D., Fort G., Narciri M. Indication of cross-resistance between different monovalent ionophores as determined by an anticoccidial sensitivity test (AST) // Proc. XVIth Europ. Symp. on Poultry Nutr., August 26-30, 2007, Strasbourg, France.

8. Snyder P.R., Guerin M.T., Hargis B.M., Kruth P.S., Page G., Rejman E., Rotolo J.L., Sears W., Zeldenrust E.G., Whale J., Barta J.R. Restoration of anticoccidial sensitivity to a commercial broiler chicken facility in Canada // Poult. Sci. - 2021. - V. 100, No 2. - P. 663.

#### Для контакта с авторами:

**Бирюков Илья Михайлович**

**E-mail: i\_biryukov88@mail.ru**

**Симонова**

**Екатерина Александровна**

**E-mail: vetsaneco.vnivip@yandex.ru**



## Anticoccidial Sensitivity Test in Diagnostics and Control of Coccidiosis in Poultry

Biryukov I.M., Simonova E.A.

Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry"  
of Russian Academy of Sciences

**Summary:** Coccidiosis is a worldwide problem of modern poultry farming. The supplementation of the diets with coccidiostatic drugs is still a valuable tool in the prevention of coccidiosis. However, it is well known that prolonged exposure of the parasite to a given drug reduces the efficiency of the latter or even causes adaptation to it in the parasites. There is only one diagnostic tool allowing for the predicting of the development of this adaptation and helping in the restoration of the coccidial sensitivity to the drugs, anticoccidial sensitivity test (AST) developed at the All-Russian Scientific Research Veterinary Institute of Poultry Farming. This test allows for the monitoring of the level of coccidial resistance to the drugs with concomitant determination of the Eimerial species involved in the invasions, their pathogenicity, and provides the quantitative characteristic reflecting parasitic pressure on the productivity parameters on the farms. The test should be performed in vivo on chicks (12-14 days of age) and involve at least 3 treatments (5 to 12 birds per treatment): 1) intact control, 2) invaded control and 3) invaded treatment fed the drug to assess. The parameters to be recorded are the percentage of survived chicks in treatment 3 and the differences between relative bodyweight gains (%) throughout the test period in control treatments and treatment 3. The resulting index (in points) calculated on the basis of these data reflects the efficiency of the tested drug: the higher the index, the more effective the drug and the less the degree of the resistance to this drug will be. This quantitative assessment of the coccidial resistance to anticoccidials allows for the more accurate adjustment of chemoprophylactic agents and programs to real field Eimerial strains and to the degree of their drug resistance.

**Keywords:** coccidiosis, eimeriosis, chicks, coccidiostatics, drug resistance, anticoccidial sensitivity test.

## ПОЗДРАВЛЯЕМ С ЮБИЛЕЕМ!



Профессор кафедры технологии производства сельскохозяйственной продукции Майкопского государственного технологического университета (МГТУ) **Набоков Заурбеч Исмаилович** 21 февраля отмечает 80-летний юбилей.

После защиты кандидатской диссертации в Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева Заурбеч Исмаилович вернулся в Адыгею, став старшим научным сотрудником НИИ сельского хозяйства, где его научные усилия были направлены на разработку и внедрение перспективной технологии ведения животноводства на промышленной основе. Тогда эти разработки явились основой создания высокопродуктивного животноводства в Адыгее.

С 1978 по 1997 г. З.И. Набоков – организатор и активный участник строительства 9 птицефабрик в Республике Адыгея с использованием новейших научных достижений, а с 1997 по 2002 г. руководил Управлением промышленного птицеводства Минсельхозпрода Адыгеи в ранге заместителя министра. За весь этот период он, удачно сочетая работу в производстве с проведением научных исследований и внедрением в практику птицеводства новейших инновационных технологий, достиг высоких результатов, что позволило адыгейскому птицеводству войти в первую десятку лучших объединений России.

Активная жизненная позиция, неиссякаемая энергия, оптимизм и уверенность в завтрашнем дне позволили ему добиваться прекрасных успехов в подготовке высококвалифицированных специалистов, которые устанавливали европейские рекорды по производственным показателям.

Желаем Вам, Заурбеч Исмаилович, крепкого здоровья, счастья, удачи и плодотворного труда в Вашем прекрасном коллективе на долгие годы!

**Академик РАН Фисинин В.И.**

**Академик РАН Егоров И.А.**

**Член-корр. РАН Салеева И.П.**

**Коллектив Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук**

**Редколлегия и редакция журнала «Птицеводство»**