

*На правах рукописи*

**Дьячкова Юлия Александровна**

**КИШЕЧНЫЕ ПРОТОЗООЗЫ ТЕЛЯТ В ХОЗЯЙСТВАХ  
ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ  
(ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА, МЕРЫ БОРЬБЫ)**

1.5.17. Паразитология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2023г.

Работа выполнена на кафедре паразитологии им. В.Л. Якимова Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Научный руководитель: **Гаврилова Надежда Алексеевна**, доктор ветеринарных наук, профессор

Официальные оппоненты: **Кряжев Андрей Леонидович**, доктор ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина», профессор кафедры эпизоотологии и микробиологии

**Климова Екатерина Сергеевна**, кандидат ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный аграрный университет», доцент кафедры эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» (ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ)

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 года в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 35.2.034.01 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5, тел/факс (812)388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: Санкт-Петербург, ул. Черниговская д.5. и на официальном сайте: <https://spbguvm.ru>.

Автореферат разослан: «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2023 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Кузнецова Надежда Викторовна

# 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**1.1 Актуальность темы исследования.** Болезни молодняка, вызываемые кишечными простейшими, широко распространены в различных регионах России и наносят значительный экономический ущерб промышленному животноводству и частным хозяйствам.

Изучению распространения кишечных протозоозов телят и разработке мер борьбы с ними посвятили свои работы многие исследователи, в частности: Шибалова Т.А. (1988), Алиев А.А. (1993), Новикова Т.В. (1999), Лоскот В.И. (2000), Дмитриева Е.Л. (2008), Quilez J. (2008), Karanis P. (2010), Петрович Е.В. (2013), Кириллов Е.Г. (2014), Климова Е.С. (2019) и др. Отечественные и зарубежные исследователи отмечают широкое распространение кишечных протозоозов в различных регионах, которые вызваны паразитированием преимущественно гомоксенных кокцидий, в частности криптоспоридий и эймерий. Изучению распространения бластоцистоза в животноводческих хозяйствах не уделяется достаточного внимания, хотя возбудители инвазии были описаны Беловой Л.М. в 1999 году. В Ленинградской области научные исследования, посвященные данной проблеме, были проведены более 20 лет назад и в настоящее время эпизоотическая ситуация по кишечным протозоозам изучена недостаточно.

Диагностика кишечных протозоозов крупного рогатого скота основана в первую очередь на идентификации возбудителей, размеры которых варьируются в широких пределах, поэтому для определения паразитофауны необходим алгоритм копрологических исследований, позволяющий выявить широкий спектр простейших.

Особый интерес вызывает подбор эффективных средств для лечения телят при криптоспориidioзе, так как многие кокцидиостатики, применяемые в животноводческих хозяйствах, не обладают достаточно эффективным терапевтическим действием.

Комплексный подход к решению данной проблемы определил направление данного исследования, поскольку эффективность мероприятий, направленных на борьбу с инвазией, вызываемой простейшими, паразитирующими в желудочно-кишечном тракте телят, зависит от особенностей эпизоотического процесса в конкретном регионе, своевременной диагностики и применения эффективного лечения.

**1.2 Степень разработанности.** Изучению кишечных протозоозов молодняка крупного рогатого скота в южных регионах России посвящены исследования Мусаевой М.Н. (2008), Абдулмагометова С.Ш. (2014) и др.; в Центрально-Черноземной зоне – Дмитриевой Е.Л. (2008), Петрович Е.В. (2013), Андрушко Е.А. (2015) и др.; в Уральском федеральном округе – Марышевой С.В. (1990), Верещак Н.А. (2016); в Приволжском федеральном округе – Небайкиной Л.А. (2001), Климовой Е.С. (2020) и др., в районах Крайнего Севера – Бочкарева И.И. (1989). В Северо-Западном регионе

исследования проводили преимущественно только в Вологодской области Новикова Т.В. (1999), Кряжев А.Л. (2004). Эпизоотическая ситуация по кишечным протозоозам телят в Ленинградской области за последние годы не анализировалась.

Для идентификации возбудителей кишечных протозоозов крупного рогатого скота не представлен алгоритм проведения копрологических исследований.

Многие исследователи отмечают, что специфическая локализация криптоспоридий в паразитофорной вакуоле, образованной микроворсинками кишечника, защищает возбудителя от воздействия лекарственных средств, поэтому и лечение телят не всегда достаточно эффективно. Кроме того, препараты, обладающие достаточной терапевтической эффективностью, относящиеся к различным химическим группам (нитрафурановые, сульфаниламиды) с течением времени не способны противостоять сформированным к ним резистентным формам паразитов, что требует нестандартного подхода к решению данной проблемы.

**1.3 Цели и задачи.** Целью исследования стало изучение эпизоотической обстановки по кишечным протозоозам телят в хозяйствах Ленинградской области и разработка эффективной схемы лечения животных.

Для достижения указанной цели поставлены следующие задачи:

1. Изучить распространение, сезонную и возрастную динамику кишечных протозоозов телят в хозяйствах Ленинградской области;
2. Разработать алгоритм копрологической диагностики кишечных протозоозов телят;
3. Определить курс лечения телят при криптоспориidioзе препаратом «Азифлумин», содержащим в качестве действующего вещества азитромицина дигидрат и возможное побочное действие на организм животных;
4. Определить оптимальную дозу и курс применения и возможное побочное действие препарата «Протостоп», содержащего в качестве действующего вещества паромомицина сульфат, при криптоспориidioзе телят;
5. Провести сравнение терапевтической эффективности препаратов, содержащих паромомицина сульфат, отечественного и зарубежного производства, применяемых при криптоспориidioзе телят.

**1.4 Научная новизна.** В ходе исследовательской работы изучено распространение, сезонная и возрастная динамика кишечных протозоозов телят в Ленинградской области. Установлено преимущественное инвазирование телят простейшими рода *Cryptosporidium*.

Для диагностики кишечных протозоозов телят разработан алгоритм копрологических исследований, включающий поэтапное исследование фекалий животных следующими методами: нативного мазка, Дарлинга с использованием усовершенствованного состава флотационной жидкости,

приготовление мазков из поверхностной пленки, сформированной в ходе флотации и окраски их по Романовскому-Гимзе и по Цилю-Нильсену.

Экспериментальным путем определена схема лечения телят при криптоспориidioзе препаратом «Азифлумин».

Экспериментальным путем установлена доза и курс лечения телят при криптоспориidioзе препаратом «Протостоп».

**1.5 Теоретическая и практическая значимость работы.** В работе рассмотрена актуальная проблема, касающаяся отрасли молочно-мясного животноводства. Полученные данные позволили оценить распространённость кишечных протозоозов телят в хозяйствах Ленинградской области и, с учетом выявленных возбудителей инвазии, подобрать эффективные препараты для лечения животных.

Предложенный алгоритм диагностики, включающий поэтапное исследование фекалий животных копрологическими методами, позволяет выявлять широкий спектр кишечных простейших.

Установлено, что применение препарата «Азифлумин» при криптоспориidioзе телят приводит к постепенному освобождению организма животных от возбудителя инвазии и не вызывает аллергических, токсических и других побочных действий. Результаты по изучению действия препарата «Азифлумин» явились основой для разработки инструкции по применению данного препарата при паразитарных болезнях.

Результаты применения препарата «Протостоп» (действующее вещество паромомицина сульфат) при лечении телят от болезней желудочно-кишечного тракта паразитарной этиологии внесены в государственную регистрационную базу данных (Свидетельство № 2022621946 от 05 августа 2022г.), а также используются для разработки инструкции по применению данного препарата при криптоспориidioзе.

Установлено, что отечественный препарат «Протостоп» не уступает по терапевтической эффективности препарат зарубежного производства – «Парафор 70».

**1.6 Методология и методы исследования.** Методология исследований основана на анализе информации по кишечным протозоозам телят, которая представлена в отечественных и зарубежных литературных источниках. При выборе методов исследований и анализе полученных результатов учтены возраст, условия содержания и кормления животных, вероятные контакты с источниками возбудителей, значение факторов передачи. Объектом исследования служили простейшие организмы, паразитирующие в кишечнике телят. Предметом исследования были причинно-следственные факторы, определяющие возникновение и распространение кишечных инвазий телят в хозяйствах Ленинградской области.

В работе были использованы общепринятые методы паразитологических, клинических, микроскопических, гематологических, биохимических, фармакологических и статистических методов исследования.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. В Ленинградской области имеются региональные особенности эпизоотического процесса кишечных протозоозов телят.

2. Алгоритм копрологических исследований, заключающийся в поэтапном проведении определенных методов диагностики, позволяет выявлять широкий спектр возбудителей кишечных протозоозов.

3. Препарат «Азифлумин», содержащий в качестве действующего вещества азитромицина дигидрат, применяемый внутримышечно в дозе 1 мл на 20 кг массы животного ежедневно в течение 7 дней, способствует освобождению организма телят от криптоспоридий и не вызывает аллергических, токсических и других побочных действий.

4. Препарат «Протостоп», содержащий в качестве действующего вещества паромомицина сульфат, применяемый перорально с водой в дозе 350 мг/кг массы животного, один раз в день, курсом 5 дней, оказывает выраженное терапевтическое действие при криптоспориidioзе телят и не оказывает негативного побочного действия на организм животных.

5. Применение препарата «Протостоп» при криптоспориidioзе телят является предпочтительным по способу введения и терапевтической эффективности.

**Апробация работы.** Результаты исследований доложены и обсуждены на конференциях: III международном паразитологическом симпозиуме, посвященном 100-летию кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова «Современные проблемы общей и частной паразитологии» (г. Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО СПбГАВМ, 2019 г.); XLYII межвузовской научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии и медицинской паразитологии», посвящ. 136-летию со дня рождения академика Е.Н. Павловского (г. Санкт-Петербург, ВМА им С.М. Кирова, 2020г.); всероссийской (национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Молодежная наука – развитию агропромышленного комплекса (г. Курск, ФГБОУ ВО Курская ГСХА, 2020 г.); XLVIII межвузовской научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии и медицинской паразитологии», посвященной 137-летию академика Е.Н. Павловского, Санкт-Петербург, ВМА им С.М. Кирова, 2021 г.); 74-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне, Санкт-Петербург, СПбГАВМ, 2020 г.; 75-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ, посвященной, объявленному в 2021 году президентом РФ Путиным В.В., году науки и технологий (г. Санкт-Петербург, 2021 г.); международной научно-

практической конференции «Теория и практика ветеринарной фармации, экологии и токсикологии в АПК», посвященной 100-летию кафедры фармакологии и токсикологии СПбГУВМ( г. Санкт-Петербург, 2021 г.); X юбилейной международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны», посвященной году науки и технологий (г. Санкт-Петербург, ФГБОУ ВО СПбГУВМ, 2021 г.); международной научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями», посвященной 90-летию со дня основания Всесоюзного института гельминтологии (г. Москва, 2022 г.).

Результаты исследований используются при чтении лекций и проведении практических занятий по курсу «Паразитология и инвазионные болезни» и научно-исследовательской работе на кафедрах паразитологии им В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО Государственный аграрный университет Северного Зауралья, эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Брянский ГАУ.

**Личный вклад соискателя.** Диссертационная работа является результатом 3-х лет научных исследований автора. Личный вклад состоит в постановке цели, определении задач, проведении экспериментов, анализе и интерпретации полученных результатов, написании статей, диссертационной работы и автореферата. Часть исследований и публикации проведены и написаны в соавторстве. Соавторы научных публикаций не возражают против использования в диссертации материалов совместных исследований, что подтверждено справками.

**Публикации результатов исследований.** По материалам диссертации опубликовано 10 работ, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 125 страницах компьютерного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, обсуждение полученных результатов, заключение, практические предложения, перспективы дальнейшей разработки темы, список использованной литературы, приложение. Иллюстрационный материал диссертации включает 15 рисунков и 8 таблиц. Список использованной литературы включает 194 источника, в том числе 75 иностранных авторов.

## **2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **2.1 Материалы и методы исследования**

Работа выполнена в период с 2019 по 2022 годы на кафедре паразитологии им. В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский

государственный университет ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ).

Эпизоотическую ситуацию по кишечным протозоозам телят изучали на животноводческих комплексах и в частных хозяйствах Всеволожского, Волосовского, Волховского, Красносельского, Киришского, Кингисеппского, Ломоносовского, Лужского и Тосненского районов Ленинградской области.

Возрастную динамику кишечных протозоозов определяли на животноводческих комплексах Красносельского и Ломоносовского района, а также в частном хозяйстве Лужского района в период с 2019 по 2020 года.

Сезонную динамику кишечных протозоозов телят изучали на животноводческом комплексе Ломоносовского района. Наблюдение за животными проводили с января по декабрь 2020 года. Копрологические исследования включали: изготовление и микроскопию нативного мазка по общепринятой методике, метод Дарлинга с усовершенствованной флотационной жидкостью, окраску мазков, приготовленных из поверхностной пленки, образованной после флотации, по Романовскому-Гимзе и Цилю-Нильсену.

Окрашивание мазков фекалий по Романовскому-Гимзе проводили с помощью набора «Диахим-Дифф-Квик» согласно инструкции производителя.

Для обнаружения ооцист криптоспоридий мазки окрашивали с использованием набора реагентов «Диахим-Набор для окраски по Цилю-Нильсену» производства НПФ «Абрис+» согласно инструкции производителя.

Интенсивность инвазии (ИИ) оценивали в крестах; «+++» – высокая ИИ (более 25 ооцист в поле зрения); «++» – средняя ИИ (до 25 ооцист в поле зрения); «+» – низкая ИИ (1 - 3 ооцист в поле зрения); «±» – одна ооциста в поле зрения при просмотре нескольких полей; «-» – отсутствие ооцист криптоспоридий.

Для подсчета количества ооцист эймерий использовали счетную камеру ВИГИС. ИИ определяли путем подсчета ооцист эймерий в 10 п.з.м. и высчитывали среднее количество на одно п.з.м. в одном г фекалий.

Идентификацию возбудителей проводили микроскопией мазков с помощью микроскопа Carl Zeiss Primo Star при увеличении 8×10, 10×10, 10×40, 10×100.

После определения преобладающей криптоспоридиозной инвазии у телят были проведены опыты по определению оптимальной дозы и кратности применения препаратов «Азифлумин» и «Протостоп» при данной инвазии.

Для проведения производственного опыта по изучению препарата «Азифлумин» сформировали 3 группы по 10 телят в каждой: две подопытные и одна контрольная. Животным из подопытных групп №1 и №2 внутримышечно вводили препарат «Азифлумин» в дозе 1 мл на 20 кг массы животного, 1 раз в день, курсами 5 (группа №1) и 7 (группа №2) дней. Животным контрольной группы (№3) проводили только симптоматическое лечение.



За животными подопытных и контрольной групп вели наблюдение в течение 21 суток. Окраску по Цилю-Нильсену мазков из фекалий телят проводили с начала применения препарата на 7, 9, 14 и 21 сутки.

До введения препарата «Азифлумин» у животных подопытных групп (№ 1, 2) брали кровь для изучения гематологических и биохимических показателей, а после его применения – у телят из группы № 1 на 6 сутки, а у телят из группы № 2 – на 8 сутки.

Производственный опыт по изучению препарата «Протостоп» проводили на животноводческом комплексе Ломоносовского района Ленинградской области. Сформировали пять групп животных: четыре подопытные и одна контрольная с ИИ криптоспоридиями не ниже средней.

Подопытным группам № 1 и №2 задавали препарат «Протостоп» в дозе 250 мг на 1 кг массы животного индивидуально, перорально, курсами 3 и 5 дней, а группам № 3 и №4 аналогичным курсом, но в дозе 350 мг на 1 кг массы животного.

Телятам в группе №5 (контрольная группа) была проведена симптоматическая терапия, применяемая в хозяйстве.

За животными подопытных и контрольной групп вели наблюдение со дня приема препарата «Протостоп» и в течение 15 дней после его применения. Фиксировали физиологическое состояние животных до введения препарата и на 4, 6, 8, 12, 15 сутки. На 8 (группы №1 и №3) и 12 сутки (группы №2, №4) после дачи препарата у животных подопытных и контрольной группы (№5) провели копрологические исследования на наличие ооцист *Cryptosporidium spp.*

Для сравнения терапевтической эффективности препарата «Протостоп» с препаратом аналогом – «Парофор 70», производитель «Biovet AD», Болгария сформировали 3 группы телят по 10 животных в каждой. Препарат «Протостоп» задавали перорально курсами 3 и 5 дней в дозе 350 мг на 1 кг массы животного индивидуально, а «Парофор 70» назначали курсом 5 дней в дозе 350 мг на 1 кг массы животного индивидуально. Оценку эффективности проводили на основании уменьшения или отсутствия криптоспоридий в пробах фекалий на 8 и 12 сутки.

До введения препаратов и на 15 сутки у животных взяли кровь на гематологические показатели. Кровь у телят брали из подхвостовой вены в пробирки с КЗ ЭДТА (этилендиаминтетраацетат).

Определение количества форменных элементов в крови проводили по общепринятым методикам. Подсчет эритроцитов и лейкоцитов осуществляли в камере Горяева. Подсчет лейкоцитарной формулы крови производили в окрашенных мазках периферической крови, а затем выводили процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов. Определение СОЭ проводили методом Панченкова (в капилляре).

Биохимический анализ сыворотки крови проводили в автоматическом анализаторе Mindray BS 120.

Статистическая обработка цифровых показателей полученного цифрового материала проведена с использованием вариационной статистики и применением критерия погрешности по Стьюденту на компьютере с использованием лицензированного программного обеспечения, применяемого в биологических и ветеринарных исследованиях.

## 2.2 Результаты исследования

### 2.2.1 Изучение распространения кишечных протозоозов телят в хозяйствах Ленинградской области

Во всех обследуемых хозяйствах, как промышленного типа, так и в частных были выявлены телята с симптомами диареи, тусклой шерстью, истощением, снижением тургора кожи, анемичными слизистыми оболочками. Копрологическими исследованиями у телят были выявлены кишечные простейшие, относящиеся к родам *Cryptosporidium*, *Eimeria*, *Blastocystis*.

Криптоспоридии были обнаружены у животных в хозяйствах, расположенных в Волосовском, Волховском, Красносельском, Киришском, Кингисеппском, Ломоносовском, Лужском и Тосненском районах. ЭИ варьировалась от 9,3% до 39,3%.

Гомоксенные кокцидии рода *Eimeria* были выявлены у телят в 3-х хозяйствах промышленного типа и одном фермерском. ЭИ варьировалась от 5,0% до 33,9%. Количество телят, инвазированных эймериями, было значительно меньше, чем криптоспоридиями и составляло 10,7 % по сравнению с 22,4%.

В меньшей степени телята были инвазированы простейшими рода *Blastocystis*. ЭИ бластоцистами телят во всех обследованных хозяйствах варьировалась от 7,6% до 18,7% и в среднем составила 3,4%. Бластоцистоз у телят выявили в хозяйствах промышленного типа в Киришском, Ломоносовском и Лужском районах, а также в частных хозяйствах Красносельского и Лужского районов.

Инвазия телят одним видом простейших – *Blastocystis spp.* установлена в одном частном хозяйстве Красносельского района, а *Cryptosporidium spp.* в двух хозяйствах промышленного типа Красносельского и Тосненского района.

Микстинвазии, образованные одновременным паразитированием *Cryptosporidium spp.* и *Eimeria spp.*, выявлены у телят в хозяйствах промышленного типа Волосовского, Кингисеппского районов и в фермерском хозяйстве Волховского района.

Двухкомпонентная инвазия, сформированная паразитированием *Cryptosporidium spp.* и *Blastocystis spp.*, установлена в хозяйствах промышленного типа Киришского и Лужского районов и в фермерском хозяйстве Лужского района.

Трехкомпонентная инвазия кишечными простейшими выявлена только в одном хозяйстве промышленного типа в Ломоносовском районе.

Инвазированность телят кишечными простейшими, паразитирующими в различных ассоциациях, в животноводческих хозяйствах различной формы собственности представлена на рисунке 1.

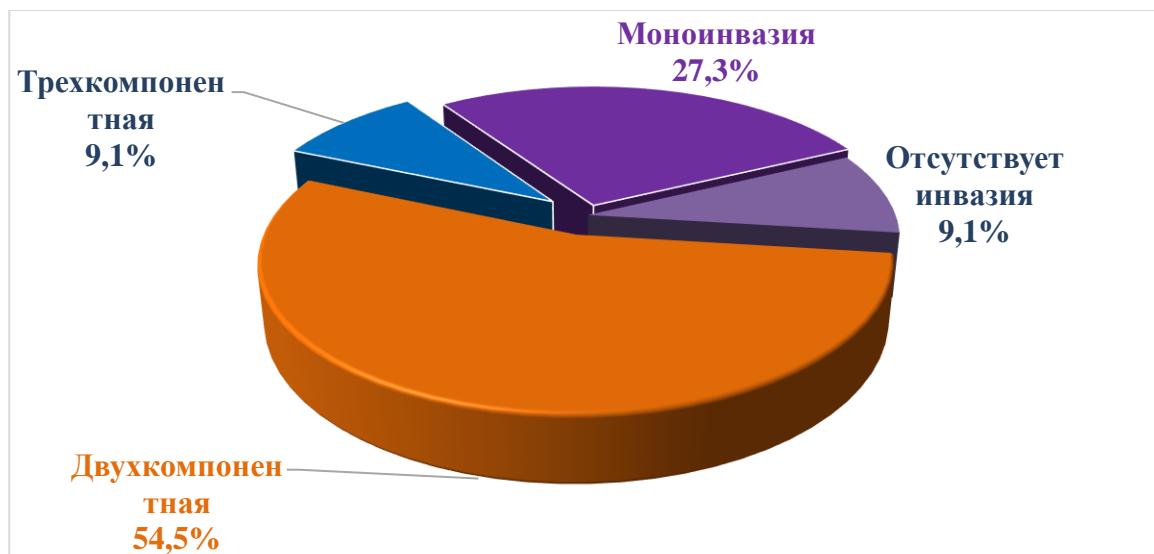
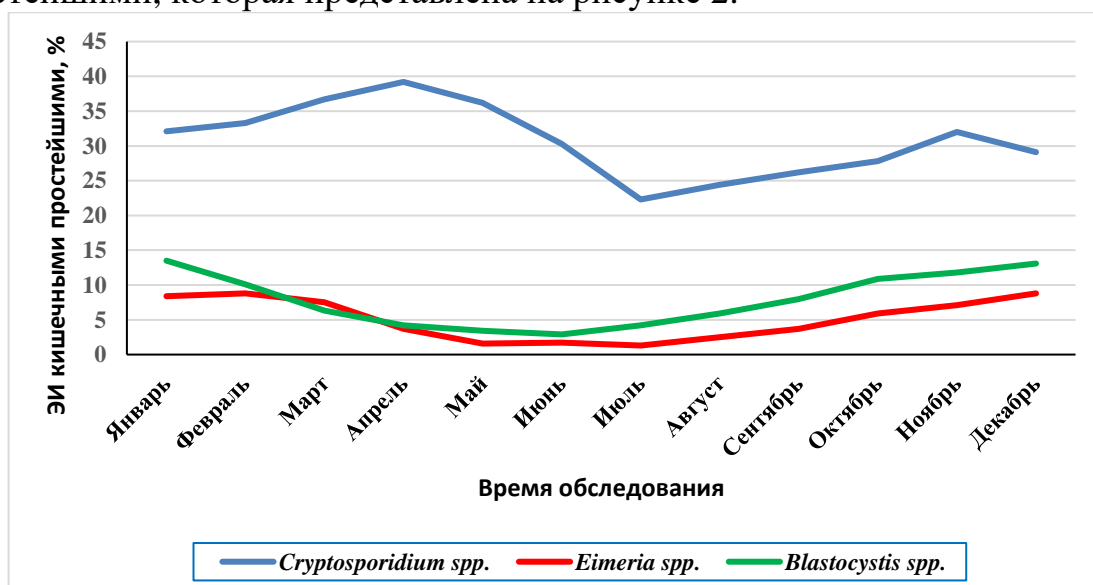


Рисунок 1– Моно- и микстинвазии у телят до 1 месяца в хозяйствах различной формы собственности, %

### 2.2.2 Сезонная динамика инвазии телят кишечными простейшими в хозяйствах Ленинградской области

Сезонную динамику кишечных протозоозов телят прослеживали на животноводческом комплексе АО «Красносельское» Ломоносовского района Ленинградской области. Ежемесячно проводили осмотр телят и копрологические исследования на предмет выявления кишечных простейших в период с января по декабрь 2020 года.

У 237 телят с клиническими признаками нарушения функции пищеварения в течение года была зафиксирована инвазия кишечными простейшими, которая представлена на рисунке 2.



## Рисунок 2 – Сезонная динамика ЭИ кишечными простейшими телят

Установили, что инвазирование телят *Cryptosporidium spp.* в меньшей степени происходит в июле (22,3%), а в период с сентября по ноябрь наблюдается увеличение ЭИ, которая затем имеет самые высокие показатели в течение всех зимних и весенних месяцев (от 29,1% до 39,2%).

Телята инвазированы *Eimeria spp.* в большей степени в осенне-зимние месяцы (ЭИ варьировалась от 3,7% до 8,8%).

Заражение телят простейшими рода *Blastocystis* чаще происходило с октября по январь. В эти месяцы ЭИ составляла от 10,9% до 13,5%. С февраля наблюдали небольшой спад ЭИ, который продолжался до июня.

Несмотря на некоторые различия пиков инвазии, в течение года кишечные инвазии имеют схожую сезонную динамику, которая характеризуется увеличением инвазированных животных в осенне-зимние месяцы и снижением – в летние.

### 2.2.3 Возрастная динамика инвазии телят кишечными простейшими в хозяйствах Ленинградской области

В хозяйствах промышленного типа при диарейном синдроме у телят выделение ооцист криптоспоридий наблюдали с 4-х дневного возраста. Далее с каждым днем число инвазированных *Cryptosporidium spp.* телят возрастало, достигая ЭИ 40,7% к 9 суткам. Телята до 14 дневного возраста, инвазированные криптоспоридиями, составляли более 30% от общего числа животных. Телята, достигшие возраста 20 суток со дня рождения, были инвазированы криптоспоридиями в меньшей степени (ЭИ 15,9%), а к 30 дневному возрасту их число составляло не более 6%.

В фермерском хозяйстве у телят клинические признаки нарушения функции пищеварения и ооцисты криптоспоридий были выявлены у животных в возрасте 10 суток, а к 14 суткам инвазированных животных составляло 38,8% от общего поголовья телят. Затем происходило снижение ЭИ. Количество инвазированных криптоспоридиями телят в возрасте с 16-17 дней было 16,6%, с 18 по 21 день – 11,1%, а с 22 по 24 – 5,5% от общего числа животных данной возрастной группы. У телят старше 25 дневного возраста ооцист криптоспоридий не было обнаружено.

Следует отметить, что несмотря на сокращение числа инвазированных криптоспоридиями телят, в течение всего периода наблюдений до достижения 8-ми месячного возраста телята продолжали выделять ооцисты *Cryptosporidium spp.*, оставаясь источником инвазии для животных раннего постнатального периода. Число инвазированных криптоспоридиями телят в возрасте 8 месяцев составляло 3,8% от общего поголовья.

ЭИ телят эймериями увеличивалась с возрастом животных. У телят возрастом до 1 месяца были обнаружены ооцисты рода *Eimeria* (ЭИ составляла 2,1%). Затем постепенно росло число инвазированных животных и при

достижении ими возраста 6 месяцев ЭИ составила 16,9%. В дальнейшем наблюдали сокращение числа зараженных животных. В течение месяца показатели ЭИ были снижены с 16,9% до 6,3% и в возрасте 8 месяцев инвазированными эймериями оставалось 5,1% телят от общего поголовья.

Наибольшее количество ооцист эймерий было выявлено у телят в возрасте 2-х месяцев (в 1 г фекалий  $264,3 \pm 7$  экз). У телят в возрасте 6 месяцев в 1 г фекалий было обнаружено  $100,2 \pm 8$  экз. ооцист эймерий. Затем у телят старше 6 месячного возраста со снижением ЭИ наблюдалось уменьшение выделения ооцист эймерий. При ЭИ равной 5,1% в 1 г фекалий телят ооцист эймерий было  $56,4 \pm 4$  экз. в этот же период была ниже.

Телята в возрасте 1 месяц чаще других возрастных групп были инвазированы *Blastocystis spp.* (17,4%). С увеличением возраста телят ЭИ снижалась плавно, не превышая 3% в 8 месячном возрасте.

#### **2.2.4 Алгоритм копрологической диагностики кишечных протозоозов телят**

Необходимость разработки алгоритма диагностики кишечных протозоозов была обусловлена тем, что каждый отдельно взятый общепринятый копрологический метод не позволяет обнаружить всю паразитофауну возбудителей кишечных протозоозов телят.

Для выявления кишечных простейших исследование проб фекалий проводили различными методами в определенной последовательности. После визуальной оценки консистенции, цвета, наличия слизи, крови в фекалиях, каждую пробу делили на две части и копрологические исследования проводили поэтапно:

I этап. Для обнаружения трофозотов и цист простейших небольшое количество фекальных масс из разных мест исследуемой пробы фекалий растирали на предметном стекле в капле воды и просматривали в микроскопе под увеличением 10x4 и 10x10. При обнаружении простейших (или при их отсутствии) переходили к следующему этапу исследований.

II этап. Копрологические флотационные методы для выявления ооцист эймерий и в качестве методики обогащения для повышения вероятности обнаружения криптоспоридий при хроническом течении инвазии, когда выделяемое количество ооцист криптоспоридий крайне мало. В данном исследовании был использован метод Дарлинга с усовершенствованной флотационной жидкостью. При обнаружении простейших микроскопией капле поверхностной пленки при увеличении 10x10, 10x40 (или при их отсутствии) переходили к следующему этапу исследований.

III этап. На предметное стекло наносили 3-4 капли поверхностной пленки, образованной при флотации, готовили мазок, фиксировали и окрашивали по Романовскому-Гимзе по общепринятой методике. Микроскопию мазков проводили при увеличении 10x100. Данный метод окраски позволяет обнаружить бластоцисты, но криптоспоридии, вследствие

слабой способности удерживать краситель, часто сложно отличить их от дрожжеподобных грибов.

IV этап. Окраска мазков из поверхностной пленки, образованной при флотации, по Циллю-Нильсену с последующей микроскопией при увеличении 10x100.

Проводя поэтапно копрологические исследования, удалось обнаружить возбудителей кишечных протозоозов, каждый из которых выделялся определенным методом.

Исследуя фекалии телят методом Дарлинга с усовершенствованным составом флотационной жидкости, были не только выявлены ооцисты рода *Eimeria*, но и установлена их видовая принадлежность: *E.bovis* и *E. zurnii*.

### **2.2.5 Определение курса лечения телят при криптоспориidioзе препаратом «Азифлумин»**

Для определения кратности применения препарата «Азифлумин» для терапевтической эффективности при криптоспориidioзе телят на животноводческом комплексе в Ломоносовском районе после подтверждения диагноза на криптоспориidioз сформировали 3 группы по 10 телят в каждой: две подопытные и одна контрольная. Животные были весом от 30 до 50 кг. Всем телятам вводили препарат внутримышечно в дозе 1,0 мл на 20 кг массы тела животного. Животным из группы № 1 внутримышечные инъекции препарата «Азифлумин» делали ежедневно, однократно, в течение 5 дней. Телятам из группы № 2 препарат «Азифлумин» применяли в течение 7 дней.

На 7 сутки после применения препарата «Азифлумин» ооцисты криптоспориидий были выявлены у 60% телят в группах №1 и № 2, а в контрольной – у 100% животных. При наличии криптоспориидий в организме более половины подопытных животных, отметили улучшение клинического состояния телят, находящихся в группах №1 и №2. Консистенция выделяемых животными фекалий оставалась разжиженной, несмотря на проведенный курс лечения.

На 14 сутки после начала 5-ти и 7-ми дневных курсов терапии ооцисты *Cryptosporidium spp.* были обнаружены у 3-х телят в группе №1, 2-х – в группе №2 и у 10 животных в контрольной группе. Телята в группах №1 и №2 были активные, выделяемые ими фекалии имели кашицеобразную консистенцию.

На 21 сутки с начала лечения животных препаратом «Азифлумин» ооцисты криптоспориидий были обнаружены в фекалиях 2-х телят из группы №1. У животных, получающих препарат в течение 7 дней, ооцист рода *Cryptosporidium* не выявили. Животные в группах №1 и №2 были активными, нарушений функции желудочно-кишечного тракта у них не было установлено.

У телят контрольной группы диарея сменялась выделением фекалий кашицеобразной консистенции, но сохранялась в течение всего периода наблюдения. При микроскопии мазков фекалий, окрашенных по Циллю-Нильсену, в поле зрения микроскопа при ув. 10x100 количество ооцист

криптоспоридий варьировалось от 5 до 11 в поле зрения. Гибели телят контрольной группы за период исследований не наступило.

Установили, что препарат «Азифлумин» обладает терапевтическим действием при криптоспориidioзе телят, которое наиболее выражено при 7-ми дневном курсе лечения.

Курс лечения в течение 5 дней менее эффективен, так как на 21 сутки с начала лечения животных данным препаратом ооцисты криптоспоридий были обнаружены в фекалиях 2-х телят из группы №1.

#### **2.2.5.1 Изучение действия препарата «Азифлумин» на организм телят путем анализа общего состояния животных и результатов клинического и биохимического анализа крови**

По результатам общего клинического анализа крови у телят первой группы до начала лечения был выявлен низкий уровень гемоглобина, число лейкоцитов, эозинофилов, сегментоядерных нейтрофилов и тромбоцитов, превышало референтные значения, а также выявлена лимфоцитопения и моноцитопения что, вероятнее всего, было обусловлено низким уровнем иммунитета и воспалительной реакцией организма, вследствие паразитирования простейших, а также обезвоживанием организма.

После применения препарата «Азифлумин» курсом 5 дней содержание гемоглобина, моноцитов, лимфоцитов повысилось, а количество эозинофилов, тромбоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, лейкоцитов стало снижаться, приближаясь к референтным значениям.

У телят второй группы, курс лечения которых был 7 дней, наблюдали аналогичную положительную динамику.

У телят третьей (контрольной) группы несмотря на симптоматическое лечение, содержание гемоглобина и лимфоцитов продолжало снижаться, а эозинофилов и тромбоцитов возрастать, что свидетельствовало о развитии патологического процесса.

По результатам биохимического исследования не было выявлено отклонений показателей от референтных значений (кроме уровня щелочной фосфатазы), как до начала лечения, так и после примененных курсов терапии.

#### **2.2.6 Определение оптимальной дозы и курса применения препарата «Протостоп» при криптоспориidioзе телят**

Для определения оптимальной дозы и курса применения препарата «Протостоп» при криптоспориidioзе телят был проведен опыт в производственных условиях в животноводческом комплексе Красносельского района. Были сформированы 5 групп животных по 10 в каждой, у которых были выявлены ооцисты *Cryptosporidium spp.*: 4 подопытные и 1 контрольная.

Животным из группы № 1 и №2 задавали препарат «Протостоп» в дозе 250 мг на 1 кг массы животного индивидуально, растворяя его в воде,

перорально, курс 3 и 5 дней. Группе № 3 и №4 задавали препарат «Протостоп» в дозе 350 мг на 1 кг массы животного индивидуально, перорально, курсом 3 и 5 дней. Контрольной группе (№ 5) была проведена симптоматическая терапия.

Установили, что применение препарата «Протостоп» в дозе 250 мг на 1 кг массы животного, а также в дозе 350 мг на 1 кг массы тела в течение 3 суток менее эффективно по сравнению с применением данного препарата в выше указанных дозах курсом 5 суток.

У телят в подопытных группах №1 и №2, которым назначали препарат «Протостоп» в дозе 250 мг на 1 кг массы тела животного, единичные ооцисты криптоспоридий были обнаружены в окрашенных по Цилю-Нильсену мазках на 8 и 12 сутки с начала применения препарата. Несмотря на то, что ооцисты криптоспоридий были выявлены в фекалиях животных, общее состояние их было удовлетворительное. На 5 сутки после применения препарата у животных подопытных групп (№1 и №2) фекалии стали кашицеобразной консистенции, кратность актов дефекации сократилась до физиологической нормы. Телята охотно принимали корм.

При выпаивании препарата «Протостоп» в дозе 350 мг на 1 кг массы тела животного курсом 5 дней ооцисты криптоспоридий не выделялись на 12 сутки с начала лечения. Курс в течение 3 дней был менее эффективный, так как через 8 суток с начала лечения в фекалиях были обнаружены единичные ооцисты криптоспоридий.

Состояние животных в группах №3 и №4 стало улучшаться на 3 сутки с начала лечения.

Состояние животных контрольной группы незначительно улучшилось на 12 день с начала применения симптоматического лечения (сократилась кратность актов дефекации, фекалии были разжиженные, но не водянистые), однако, в мазках фекалий ИИ ооцистами криптоспоридий была выявлена выше средней.

#### **2.2.6.1 Анализ общего состояния телят и результатов клинического анализа крови до и после применения препарата «Протостоп»**

Результаты гематологического анализа показали, что до начала курса лечения у животных подопытных и контрольной групп была установлена анемия, тромбоцитопения, нейтрофилия, эозинофилия, а также увеличена СОЭ. На 15 сутки с начала курса лечения у телят групп №1 и №2 наблюдали повышения числа моноцитов и лимфоцитов в крови, снижение эозинофилов, сегментоядерных нейтрофилов и СОЭ. В контрольной группе №3 в крови у телят гемоглобин, тромбоциты, моноциты и лимфоциты продолжали снижаться. Содержание эозинофилов и сегментоядерных нейтрофилов продолжали повышаться.



По результатам биохимического исследования крови на 15 день с начала проведения опыта у телят подопытных и контрольной групп основные показатели были в пределах референтных значений.

При оценке общего состояния животных в подопытных группах каких-либо изменений, указывающих на токсическое или аллергическое действие препарата, не было отмечено.

### **2.2.7 Оценка сравнительной эффективности препарата «Протостоп» и аналога зарубежного производства «Парофор 70»**

Для сравнения терапевтической эффективности препарата «Протостоп» с препаратом аналогом – «Парофор 70» (производитель «Biovet AD», Болгария) сформировали 3 группы телят по 10 животных в каждой. Животным препарат «Протостоп» задавали перорально курсами 3 и 5 дней в дозе 350 мг на 1 кг массы животного индивидуально. Препарат «Парофор 70» назначали курсом 5 дней в дозе 350 мг на 1 кг массы животного индивидуально. Оценка эффективности проводили на 8 и 12 день.

После применения препарата «Протостоп» курсом 3 дня в дозе 350 мг на 1 кг (группа №1), были отмечены значительные улучшения общего состояния животных. Копрологическими исследованиями были выявлены единичные ооцисты криптоспоридий.

После введения препарата «Протостоп» курсом 5 дней в дозе 350 мг на 1 кг массы животного перорально с водой (группа № 2), ооцист криптоспоридий на 12 сутки не было обнаружено.

В пробах фекалий телят группы № 3, получавшей терапию препаратом аналогом, обнаружены единичные ооцисты криптоспоридий на 12 сутки с начала терапии.

Терапевтическая эффективность препарата «Протостоп», применяемого в дозе 350 мг/кг массы животного перорально с водой, один раз в день, курсом 5 дней выше эффективности препарата «Парофор 70» в дозе 350 мг/кг, применяемого аналогичным курсом.

## **3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

На основании полученных данных были сделаны следующие выводы:

1. В Ленинградской области в животноводческих хозяйствах, как промышленного типа, так и в частных, у телят с диарейным синдромом выявлены простейшие, относящиеся к роду *Cryptosporidium*, *Eimeria* и *Blastocystis*. Среднее значение ЭИ составляло 22,4%, 10,7 % и 3,4% соответственно.

2. В хозяйствах промышленного типа инвазированность телят *Cryptosporidium spp.* выше, чем в частных (среднее значение ЭИ 22,3% по сравнению с 16,5%), но ниже *Eimeria spp.* и *Blastocystis spp.* (8,9 % и 3,2% по сравнению с 10,3% и 11,1% соответственно).

3. Протозоозы чаще протекают как двухкомпонентные инвазии (54,5%), сформированные паразитированием *Cryptosporidium spp.* с *Blastocystis spp.* И *Cryptosporidium spp.* с *Eimeria spp.* и в меньшей степени как моноинвазии (27,3%) и трехкомпонентной инвазии (9,1%).

4. Кишечные протозоозы у телят регистрируются в течение года. Пик криптоспоридиозной инвазии приходится на март-апрель (ЭИ до 39,2%), эймериозной – на декабрь и февраль (ЭИ 8,8%), бластоцистозной – на январь (ЭИ 13,5%).

5. Выделение ооцист *Cryptosporidium spp.* происходит с 4-х дневного возраста телят. В хозяйствах промышленного типа криптоспоридиями инвазированы преимущественно телята 9 дневного возраста (40,7%), а к 30 дневному возрасту ЭИ снижается до 6%. В частных хозяйствах максимально инвазированы телята 14-ти дневного возраста (38,8%), а к 24 дневному возрасту их число составляет 5,5%. Пик эймериозной инвазии наблюдается у телят 6-месячного возраста. Максимальная ИИ у телят 2-х месячного возраста ( $264,3 \pm 7$  экз. ооцист в 1г фекалий). Бластоцистоз диагностирован у телят месячного возраста чаще других возрастных групп (17,4%). С увеличением возраста телят ЭИ снижается постепенно и не превышает 3 % у животных в 8 месячном возрасте.

6. Алгоритм диагностики кишечных протозоозов, состоящий из 4-х этапов проведения методов копрологических исследований, в определенной последовательности позволяет выявлять широкий спектр возбудителей, в том числе при низкой ИИ.

7. Препарат «Азифлумин», содержащий в качестве действующего вещества азитромицина дигидрат, применяемый внутримышечно в дозе 1 мл на 20 кг массы животного ежедневно в течение 7 дней, способствует освобождению организма телят от криптоспоридий и не вызывает аллергических, токсических и других побочных действий.

8. Препарат «Протостоп», содержащий в качестве действующего вещества паромомицина сульфат, применяемый перорально с водой в дозе 350 мг/кг массы животного, один раз в день, курсом 5 дней, оказывает выраженное терапевтическое действие при криптоспоридиозе телят и не оказывает негативного побочного действия на организм животных.

9. Курс лечения животных при криптоспоридиозе препаратом «Протостоп» в дозе 350 мг/кг массы животного перорально с водой, один раз в день в течение 5 дней, эффективнее курса применения препарата «Парофор 70» в дозе 350 мг/кг, один раз в день, в течение 5 дней.

10. Применение препарата «Протостоп» при криптоспоридиозе телят является предпочтительным по способу введения и терапевтической эффективности.

### **ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРАКТИКИ**

Для выявления возбудителей кишечных простейших, имеющих различные морфологические признаки, следует последовательно проводить копрологические исследования, включающие методы нативного мазка и

Дарлинга, окраску мазков из поверхностной флотационной пленки по Романовскому-Гимзе и в дальнейшем – по Цилю-Нильсену.

При криптоспориidioзе телят рекомендуем применять препарат «Азифлумин», содержащий в качестве действующего вещества азитромицина дигидрат, внутримышечно в дозе 1 мл на 20 кг массы животного, ежедневно в течение 7 дней.

Для лечения телят при криптоспориidioзе рекомендуем применять препарат «Протостоп», содержащий в качестве действующего вещества паромомицина сульфат, применяемый перорально с водой в дозе 350 мг/кг массы животного, один раз в день, курсом 5 дней.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

В данных исследованиях не отражена вся глубина проблемы кишечных протозоозов телят. Для контроля динамики эпизоотического процесса следует проводить ежегодный мониторинг паразитарной ситуации по кишечным протозоозам.

Перспективным следует считать разработку дезинфектантов, разрушающих ооцисты криптоспоридий во внешней среде, исключая второе звено эпизоотического процесса при кишечных протозоозах.

Разнообразие возбудителей, форм паразитирования и способов выделения диагностических стадий требует разработки широкого спектра методов диагностики с применением современных технологий.

Детальное изучение механизмов взаимодействия паразит-хозяин и процесс развития заболевания позволит разработать новые патогенетически обоснованные подходы к терапии криптоспориidioза, в том числе основанные на комбинированном применении протовопротозойных препаратов и иммуномодулирующих средств.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации.**

**Статьи в журналах, внесенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ**

1. Гаврилова, Н.А. Алгоритм копрологической диагностики кишечных протозоозов телят/ Н.А. Гаврилова, Л.М. Белова, Ю.А. Щербина //Международный вестник ветеринарии. –2020. –№3. –С.19-24. (**Перечень ВАК Минобрнауки России**).

2. Гаврилова, Н.А. Изучение эффективности препарата «Азифлумин» при криптоспориidioзе телят/ Н.А. Гаврилова, Л.М. Белова, Ю.А. Щербина //Международный вестник ветеринарии. –2021. –№2. – С.12-19. (**Перечень ВАК Минобрнауки России**).

3. Гаврилова, Н.А. Изучение безопасности применения препарата «Протостоп» при криптоспориidioзе телят/ Гаврилова Н.А., Белова Л.М.,

Щербина Ю.А. //Международный вестник ветеринарии. –2021. –№4. –С.46-51. **(Перечень ВАК Минобрнауки России).**

4. Щербина, Ю.А. Эффективность применения антибиотика группы аминогликозидов при криптоспориidioзе телят /Ю.А. Щербина, Н.А. Гаврилова // Международный вестник ветеринарии. –2022. –№1. – С.14-18. **(Перечень ВАК Минобрнауки России).**

#### **Статьи, опубликованные в сборниках научных трудов и материалах конференций**

1. Щербина, Ю.А. Изучение эпизоотической обстановки по криптоспориidioзу телят в животноводческом комплексе Ленинградской области/ Ю.А. Щербина// Сб. статей XLVII межвузовской научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии и медицинской паразитологии», посвящ. 136-летию со дня рожд. академика Е.Н. Павловского. – СПб, Изд-во ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова». – 2020. – С.71-72.

2. Щербина, Ю.А. Диагностика бластоцистоза телят в хозяйствах Ленинградской области/ Ю.А. Щербина //Материалы Всероссийской (национальной) научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Молодежная наука- развитию агропромышленного комплекса». –Курск. –изд-во КГСА. –2020. –С.509-513.

3. Щербина, Ю.А. Криптоспориidioз телят в фермерских хозяйствах Ленинградской области / Ю.А. Щербина// Сб. статей XLVIII межвузовской научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии и медицинской паразитологии», посвящ. 137-летию со дня рожд. академика Е.Н. Павловского. – СПб, Изд-во ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова». – 2021. – С.68-71.

4. Гаврилова, Н.А. Применение препарата «Азифлумин» при криптоспориidioзе телят/ Н.А. Гаврилова, Л.М. Белова, Ю.А. Щербина //сб. статей международной научно-практической конференции «Теория и практика ветеринарной фармации, экологии и токсикологии в АПК», посвящ. 100-летию кафедры фармакологии и токсикологии СПбГУВМ.– СПб, Изд-во «Лема».– С.49-52.

5. Щербина, Ю.А. Терапевтическая эффективность антибиотика группы макролидов при криптоспориidioзе телят / Щербина Ю.А., Гаврилова Н.А.// Материалы X юбилейной международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны», посвященной году науки и технологий.– СПб, Изд-во «ФГБВОУ ВО СПбГУВМ».– 2021.– С.407-408.

6. Щербина, Ю.А. Терапевтическая эффективность аминогликозидов при криптоспориidioзе телят /Ю.А. Щербина, Н.А. Гаврилова // Сб. статей по материалам международной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями, посвящ. 90-летию со дня основания Всесоюзного института гельминтологии.– СПб.–2022.–С.532-536.