

36

На правах рукописи



КОРОТКОВА
Ирина Петровна

**ЭПИЗООТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БОЛЕЗНИ КУР, ОБУСЛОВЛЕННОЙ
CLOSTRIDIUM PERFRINGENS И ЕЕ АССОЦИАЦИЯМИ
РАЗРАБОТКА РАЦИОНАЛЬНЫХ СХЕМ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ
МЕРОПРИЯТИЙ**

16 00 03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология
с микотоксикологией и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Новосибирск 2008



Работа выполнена в Институте ветеринарной медицины ФГОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет»

Научный руководитель доктор ветеринарных наук, профессор
Трофимов Игорь Георгиевич

Официальные оппоненты доктор ветеринарных наук, профессор
Кисленко Виктор Никифорович,

кандидат ветеринарных наук,
старший научный сотрудник
Юшков Юрий Георгиевич

Ведущая организация **ФГОУ ВПО «Алтайский
государственный аграрный университет»**

Защита состоится 29 мая 2008 г в 16⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 006 045 01 при Государственном научном учреждении Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО Россельхозакадемии по адресу 630501, Новосибирская область, Новосибирский район, п Краснообск, СО Россельхозакадемии, ИЭВС и ДВ

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНСХБ СО Россельхозакадемии

Автореферат разослан 16 апреля 2008 г

Ученый секретарь
диссертационного совета



Г М Стеблева

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Птицеводство, как одна из важных отраслей сельского хозяйства, занимает значительное место в решении задач по удовлетворению потребности населения в продуктах питания. Высокая концентрация птицы, тесное взаимодействие основных производственных цехов и подразделений, а также разные методы выращивания молодняка и содержания взрослых особей создают напряженную эпизоотическую ситуацию по инфекционным болезням, нередко приводящую к существенным экономическим затратам на проведение лечебных и профилактических мероприятий

Исследованиями многих ученых доказаны серьезные изменения в нозологической структуре инфекционных болезней птиц. Все чаще в промышленном птицеводстве стали наблюдать высокую смертность кур при острой форме энтеротоксемии, обусловленной *Clostridium perfringens* (возбудитель анаэробной энтеротоксемии) и ее ассоциациями с другой микрофлорой (О.В. Рыбальченко, 2004, В.А. Бакулин, 2006; S P Robert, 2001) Видовой состав возбудителей болезней в каждом птицеводческом помещении различен и может включать группы бактерий, вирусов, микоплазм и др. В процессе их взаимодействия изменяются адаптивные, антигенные, патогенные (или токсигенные) свойства каждого вида возбудителя. При этом своевременность постановки первичного диагноза и установление этиологии болезни во многом зависят от качества лабораторных исследований, без проведения которых эпизоотическая ситуация может оставаться неясной длительное время (Н.А. Яременко с соавт., 1998)

Официальных данных о распространении в РФ анаэробной энтеротоксемии среди кур нами не обнаружено. Несмотря на имеющиеся работы, посвященные изучению анаэробной энтеротоксемии птиц, вопросы этиологии, эпизоотологии, профилактики и лечения этой болезни, в том числе с учетом возможности ассоциированного проявления с другими болезнями, остаются малоизученными и требуют дальнейшего исследования (Б.Ф. Бессарабов с соавт., 1989, 2001)

Все вышеизложенное послужило основанием для выбора темы научно-исследовательской работы, определения цели и задач исследования.

Цель исследований. Целью настоящей работы явилось изучение особенностей эпизоотического процесса энтеротоксемии кур, обусловленной *Clostridium perfringens* и ее ассоциациями, на бройлерных и яичных птицефабриках с различной технологией содержания птицы и усовершенствование, с учетом полученных данных, лечебно-профилактических мероприятий

Задачи исследований:

1 Установить эпизоотические особенности энтеротоксемии кур, обусловленной *Clostridium perfringens* и ее ассоциациями, на птицефабриках Омской области

2 Изучить биологические свойства выделенных клостридий и сопутствующих эшерихий, включая определение их чувствительности к различным антимикробным препаратам, а также способности вызывать болезнь при разных методах искусственного заражения восприимчивой птицы

3 Разработать рациональные схемы лечебно-профилактических мероприятий при анаэробной энтеротоксемии, проявляющейся у кур как в виде моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом

Научная новизна. Изучены особенности проявления у кур на птицефабриках мясного и яичного направлений Омской области болезни, обусловленной *Clostridium perfringens* – возбудителем анаэробной энтеротоксемии, а также ее ассоциациями с другой микрофлорой

Определены вид и типы клостридий, циркулирующих на птицефабриках Омской области. Изучены морфологические, тинкториальные, культурально-биохимические свойства выделенных культур. Получены новые данные о сенсibiliзирующих свойствах и токсигенности культур *Clostridium perfringens*, выделенных от кур различных кроссов и возрастов.

Установлена различная степень бактериальной обсемененности воздуха в птичниках при напольном, сетчатом и клеточном содержании кур. Доказана эффективность применения препарата диксам для обеззараживания воздуха птичников в присутствии птицы, позволяющая значительно снизить уровень микробной обсемененности

Разработаны эффективные в противозпизоотическом и экономическом отношении схемы лечебно-профилактических мероприятий при анаэробной энтеротоксемии, проявляющейся у кур как в виде моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом

Практическая и теоретическая значимость работы. Результаты проведенных исследований позволяют расширить представление об особенностях эпизоотического процесса, вызываемого у кур *Clostridium perfringens* возбудителем анаэробной энтеротоксемии, а также ее ассоциациями с другой микрофлорой

Для практического применения в птицеводстве предложены рациональные в противозпизоотическом и экономическом отношении схемы лечебно-профилактических мероприятий с использованием антимикробного препарата колмик-Е в сочетании с пробиотиком бифитрилаком, обеспечивающие сокращение затрат на профилактику и лечение, снижение заболеваемости, повышение сохранности и продуктивности птицы

Разработаны и внедрены в птицеводческие хозяйства методические рекомендации (2008) по профилактике и борьбе с энтеротоксемией кур, обусловленной *Clostridium perfringens*.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены на одиннадцатой и двенадцатой научных конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов (Омский государственный аграрный университет, 2004, 2005 гг.), на четвертой Всероссийской дистанционной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Современные проблемы устойчивого развития агропромышленного комплекса России» (Донской государственный аграрный университет, 2007 г.), на ученом совете ГНУ «Сибирского научно-исследовательского института птицеводства»

РАСХН (Омск, 2007 г), на восьмой Сибирской ветеринарной конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины» (Новосибирский государственный аграрный университет Институт ветеринарной медицины, 2008 г)

Публикации результатов исследований. По теме диссертации опубликованы методические рекомендации и восемь научных работ, в том числе одна в издании, регламентированном ВАК Министерства образования и науки РФ для докторских и кандидатских диссертаций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 178 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических предложений, списка литературы и приложения. Список использованной литературы включает 265 наименований, в том числе 84 иностранных авторов. Диссертация иллюстрирована 15 рисунками и 24 таблицами.

Внедрение результатов исследований. Материалы диссертационной работы используются в работе ГНУ «СибНИИП» РАСХН, а также в учебном процессе кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ.

Результаты исследований внедрены в практическую работу ОНО «ЭПХ СибНИИП» ГНУ МНТЦ «Племптица» РАСХН, ОАО «Птицефабрика Сибирская», ЗАО «Иртышское» и ЗАО «Птицефабрика Любинская».

Основные положения, выносимые на защиту:

1 Эпизоотические особенности энтеротоксемии кур, обусловленной *Clostridium perfringens* и ее ассоциациями, на птицефабриках Омской области.

2 Результаты изучения биологических свойств выделенных клостридий и сопутствующих возбудителей.

3. Рациональные схемы лечебно-профилактических мероприятий при анаэробной энтеротоксемии, проявляющейся у кур как в виде моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы и методы исследований

Работа выполнена в период с 2004 по 2007 гг. на базе кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ, в птицеводческих хозяйствах Омской области, в ФГУ «Омской областной ветеринарной лаборатории» в отделе по болезням птиц, в ГНУ «Сибирского научно-исследовательского института птицеводства» РАСХН.

В опытах было использовано 8110 цыплят.

Для выяснения особенностей проявления болезни, обусловленной *Clostridium perfringens* и ее ассоциациями с другой микрофлорой, в птицеводческих хозяйствах Омской области, использовали эпизоотологический, клинический, патолого-анатомический и бактериологический методы диагностики. Объектами исследований служили куры разных кроссов и половозрастных групп.

Изучали влияние различных систем содержания кур на распространение в хозяйствах энтеротоксемии, обусловленной *Clostridium perfringens* и ее ассоциацией

с возбудителями других болезней. Микробную обсемененность воздуха исследовали в 24 птичниках в различные возрастные периоды кур (10, 20, 30, 60 дней) по методике А.Н. Борисенковой, используя МПА с добавлением 5% крови. В целях уменьшения общей микробной обсемененности воздуха в птичнике испытывали препарат диксам. Санитарно-микробиологический анализ проб питьевой воды провели согласно СанПИНу 2 1 4 1074-01, СанПИНу 2.1 4 1175-02 Для определения категории загрязнения глубокой несменяемой подстилки из 8 птичников отобраны и исследованы ее пробы на наличие возбудителя *Clostridium perfringens*

Проведено патологоанатомическое вскрытие 1520 трупов павших, вынужденно убитых больных кур и цыплят. У 716 из них проведено полное бактериологическое исследование. Объектом микробиологических исследований служили пробы из тонкого отдела кишечника, а также из крови печени и сердца свежих трупов кур. Лабораторные исследования проводили согласно «Методическим указаниям по лабораторной диагностике инфекционной энтеротоксемии животных и анаэробной дизентерии ягнят» (1984)

Посев проб исследуемого материала проводили на среды Китта-Тароцци, МПА, МПБ с последующим инкубированием в аэробных и анаэробных условиях при 37°C в течение 24–48 ч. С целью изучения свойств микроорганизмов, проводили их пересевы на МПА, среду Китта-Тароцци, глюкозо-кровяной агар Цейсслера, железо-сульфитный агар Вильсон-Блера, Висмут-сульфит агар, среды Эндо, Симмонса, Клиглера. Для идентификации микроорганизмов после изучения культуральных, тинкториальных, морфологических и биохимических свойств использовали «Определитель бактерий Берджи» (1997). Чувствительность бактерий к антимикробным препаратам определяли дискодиффузным методом и методом серийных разведений.

Определение типа основного токсина клостридий проводили с использованием диагностических анитоксических сывороток *Cl perfringens* типа А, С, D, Е, F и физиологического раствора (контроль) на белых мышах одного возраста с массой тела 16–18 г. Токсигенность выделенных культур клостридий и эшерихий также изучали на белых мышах, согласно «Методическим указаниям по лабораторной диагностике инфекционной энтеротоксемии животных и анаэробной дизентерии ягнят» (1984)

С целью сравнительного изучения разных методов заражения были сформированы по принципу аналогов семь групп цыплят-бройлеров (n=70) 25-дневного возраста (6 опытных и одна контрольная группа), по 10 особей в каждой. При постановке опыта по заражению, материалом служила наиболее токсигенная 16-часовая бульонная культура *Cl perfringens* типа D и 18-часовая культура *E coli* серотип O₇₈. Исследуемые культуры (*Cl perfringens*, а также *Cl perfringens* в ассоциации с *E coli*) вводили тремя различными методами – алиментарно, субкутанно и интраперитонеально. Цыплят содержали в виварии. За зараженной птицей вели наблюдение в течение семи дней

Во всех опытных группах оценивали токсигенность изучаемых культур клостридий и эшерихий. Данный показатель основывался на клинической картине болезни, сроках гибели зараженных цыплят и на интенсивности поражения внутренних органов.

На основании полученных данных проводили дальнейшие серии опытов по заражению цыплят с последующим испытанием антимикробных препаратов в разработанных нами лечебно-профилактических схемах.

В экспериментальных условиях провели серию опытов на клинически здоровых цыплятах-бройлерах (n=240) кросса «Корниш», породы «Сибиряк» 25-дневного возраста, со средней массой тела 670 гр. Цыплят разделили на контрольные и опытные группы, по 10 особей в каждой, и содержали напольно в течение 14 дней.

В 1 серии опыта (n=120) заражение проводили наиболее токсигенной культурой *Cl. perfringens* типа D. Во 2 серии опыта (n=120) для моделирования у цыплят ассоциативной анаэробной энтеротоксемии использовали культуру *Cl. perfringens* типа D и культуру *E. coli* серотип O₇₈. В обеих сериях опыта, схемы заражения, лечения и профилактики идентичные. 1 группа являлась чистым контролем, 2 группа – контролем заражения. С целью изучения схем профилактики болезни, в 3 и 8 группах препараты задавали за 3 часа до заражения, в 6 и 11 группах – за 2 дня до заражения. Для изучения схем лечения в 4 и 9 группах препараты задавали через 3 часа после заражения, в 7 и 12 группах – через 2 дня после заражения, а в 5 и 10 группах цыплята получали препараты одновременно с заражением.

Для профилактики и лечения анаэробной энтеротоксемии кур как моноинфекции, так и в ассоциации с инфекцией, вызываемой патогенным серотипом *E. coli*, испытаны антимикробные препараты широкого спектра действия колмик-Е и энроксил, в сочетании с пробиотиком бифитрилаком. Препараты были взяты с учетом их активности *in vitro* и задавали их согласно дозировкам, рекомендованным компаниями-производителями.

Наиболее эффективные и рациональные схемы профилактики и лечения, полученные после проведения экспериментальных исследований, были испытаны в производственных условиях в сравнении со схемами, применяемыми в хозяйстве. В опыте использовали 7800 цыплят.

Расчет экономической эффективности приводимых лечебно-профилактических схем дан в соответствии с «Методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий», утвержденной Департаментом ветеринарии РФ 21 марта 1997 г. Наиболее эффективные и рациональные схемы профилактики и лечения предложены для использования в производственных условиях.

Цифровые данные экспериментов обработаны методами математической статистики, принятыми в биологии и медицине, с использованием компьютерной программы *Microsoft Excel 2000* и критериев Стьюдента.

2.2. Эпизоотическая ситуация по энтеротоксемии кур, обусловленной *Clostridium perfringens*, и ее ассоциациям на птицефабриках Омской области

На первом этапе наших исследований была изучена эпизоотическая ситуация по энтеротоксемии кур, обусловленной *Clostridium perfringens*, и ее ассоциациям на птицефабриках Омской области.

Болезнь зарегистрирована на пяти птицефабриках Омской области. Причем, с каждым годом отмечается рост заболеваемости кур. Анализ напряженности эпизоотического процесса показал, что большая доля погибшей птицы (кур) приходится на: колибактериоз – 37%, сальмонеллез – 30%, псевдомоноз – 15%; меньшая – на анаэробную энтеротоксемию – 7%, респираторный микоплазмоз – 7% и пастереллез – 4% (рис. 1.). Среди больных анаэробной энтеротоксемией, доминировали куры мясных пород – 76% случаев (среди яичных пород – 24%).



Рисунок 1 – Экстенсивность эпизоотического процесса при инфекционных болезнях кур за 2004 – 2007 гг. на птицефабриках Омской области

При анализе данных сезонной динамики анаэробной энтеротоксемии установлено, что болезнь регистрируется в течение всего года, однако подъем смертности приходится на март–октябрь.

Из общего числа погибших от энтеротоксемии доля цыплят составила – 58%, молодки – 7%, взрослой птицы – 35%.

Как моноинфекция, анаэробная энтеротоксемия встречалась в 7% случаев; 93% приходилось на ассоциации (рис. 2).

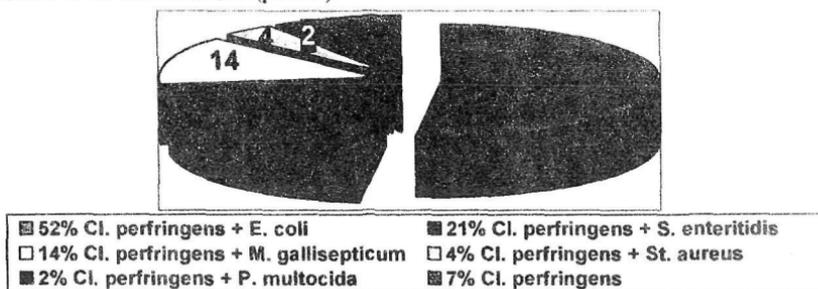


Рисунок 2 – Бактериальные ассоциации при анаэробной энтеротоксемии кур

В результате проведенных бактериологических исследований выделены культуры следующих микроорганизмов *E coli* (1 группа 1 серотип O₂, O₇₈, O₁₁₉), *S enteritidis*, *M gallisepticum*, *P multocida*, *St aureus* При этом не наблюдали зависимости между ассоциативным течением и породной принадлежностью кур

2.3. Влияние различных систем содержания кур на распространение в хозяйствах анаэробной энтеротоксемии, в том числе в ассоциации с другими болезнями

Целью данных исследований являлось изучение влияния бактериальной обсемененности воды, воздуха птичников и глубокой несменяемой подстилки на возникновение, развитие и распространение анаэробной энтеротоксемии среди кур разных возрастных групп с различными системами их содержания (на сетке, на полу – глубокая несменяемая подстилка, и в клетке – КБН)

Микробную обсемененность воздуха исследовали в птичниках (n=24) в различные возрастные периоды цыплят (10, 20, 30, 60 дней) Установлено, что наименьшая микробная обсемененность воздуха птичников при клеточном содержании кур (33,5±1,5 тыс м т /м³ – в 10-дневном возрасте; 41,5±1,5 тыс м т /м³ – в 20-дневном возрасте, 80,5±2,5 тыс м т /м³ – в 30-дневном возрасте, 122,5±2,5 тыс м т /м³ – в 60-дневном возрасте), наивысшая – при напольном (72,5±2,5 тыс м т /м³, 78,5±1,5 тыс м т /м³, 287,5±12,5 тыс м т /м³, 392,5±7,5 тыс м т /м³, соответственно) и сетчатом (64,5±0,5 тыс м т /м³; 70,0±0 тыс м т /м³, 244,5±5,5 тыс м т /м³; 370,0±10,0 тыс м т /м³, соответственно)

При вскрытии трупов павших птиц, обнаруженных в этих птичниках, в 52% случаев устанавливали патологоанатомические признаки, характерные как для анаэробной энтеротоксемии, так и для колибактериоза При бактериологическом исследовании таких трупов из паренхиматозных органов и кишечника выделяли *Cl perfringens* типа D – 19%, реже типа C – 9%; *E coli* (серотип O₂, O₇₈) – 48%; *S enteritidis* – 24% Серотипы кишечной палочки – O₂, O₇₈, выделенные из трупов цыплят и воздуха птичников были идентичными.

Испытанный нами препарат диксам в птичниках с напольной системой содержания кур (n=4) позволил уменьшить уровень общей микробной обсемененности воздуха С 287,5±12,5 тыс м т /м³ данный показатель достоверно снизился до 75,0±3,0 тыс. м т /м³ (P≤0,001)

При бактериологическом исследовании из паренхиматозных органов и кишечника трупов павших кур, обнаруженных в этих птичниках, выделяли *Cl perfringens* типа D – в 7% случаев, тип C – не выделяли, *E coli* (серотип O₂, O₇₈) – 25% случаев Коэффициент корреляции равен минус 0,90 Это говорит о том, что между обеззараживанием воздуха птичников препаратом диксам и смертностью, обусловленной у кур *Cl perfringens*, наблюдается сильная обратная связь с проведением обеззараживания воздуха снижается гибель кур, вызванная *Cl perfringens* и *E coli* Коэффициент корреляции достоверен (P≤0,001)

Согласно СанПИНу 2.14.1074-01 и СанПИНу 2.14.1175-02, проведено санитарно-микробиологическое исследование проб питьевой воды с определением коли-индекса и коли-титра

При содержании на полу (чашечное поение) и в клетке (КБН – проточные желоба), коли-титр и коли-индекс воды в птичниках не соответствовали СанПИНу коли-индекс более 1100, коли-титр менее 0,9. Пробы воды из общего крана и при nippleном поении (содержание птицы на сетке) удовлетворяли требованиям СанПИНа (коли-индекс менее 3, коли-титр более 333)

Этапом наших дальнейших исследований стало определение категории загрязнения глубокой несменяемой подстилки. Анализ полученных микробиологических данных показал, что в возрасте 10 дней у цыплят подстилка является фактически чистой. По мере роста птицы изменяется ее качество и уже с 20-дневного возраста степень загрязнения возбудителем *Cl. perfringens* нарастает.

Анализ полученных данных при различных системах содержания кур позволяет установить возрастную зависимость заболевания энтеротоксемией, обусловленной *Cl. perfringens* на фоне колибактериоза от качества потребляемой птицей воды, микробной обсемененности воздуха и глубокой несменяемой подстилки – при содержании на полу с 20, на сетке с 25–30, а в клетке, начиная с 60-дневного возраста.

2.4. Выделение и изучение биологических свойств *Clostridium perfringens* и сопутствующих возбудителей

2.4.1. Видовой состав выделенной микрофлоры.

Культурально-морфологические и биохимические свойства *Cl. perfringens*

Для определения видового состава и типов бактерий, в частности *Cl. perfringens*, циркулирующих среди кур, были исследованы пробы материалов (n=244), полученные от трупов яичных и мясных кур различного возраста из 5 хозяйств Омской области. Из них изолировали 132 культуры клостридий. Культуральные, тинкториальные, морфологические и биохимические свойства культур *Cl. perfringens* принципиально не отличались от описанных ранее в литературе. Однако, в ходе определения основного токсина клостридий выявлено преобладание *Cl. perfringens* типа D – 99 изолятов (75%), тип C – 33 изолята (25%).

В 7% случаев удалось выделить монокультуру *Clostridium perfringens*, а в 93% – ассоциации с другими микроорганизмами. В них доминировали: *Escherichia coli* – 37%, *Salmonella enteritidis* – 30%, *Pseudomonas aeruginosa* – 15%. Оставшийся процент приходился на *Clostridium perfringens*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*.

2.4.2. Чувствительность выделенных культур клостридий и эшерихий к различным антибактериальным препаратам *in vitro*

Наибольшей активностью *in vitro* к *Cl. perfringens* обладали (высоко чувствительны все культуры) колмик-Е (30,4±0,7 мм), энроксил (28,9±0,5 мм) и

энрофлон ($27,2 \pm 0,6$ мм) Культуры оказались чувствительными к киноэксу ($19,2 \pm 1,0$ мм) и тилозину тартрату ($16,5 \pm 0,5$ мм), малочувствительными к коливету и ципрофлоксацину, устойчивыми к левомицетину, неомичину, тетрациклину и гентамицину В отношении *E coli* наилучшую антибактериальную активность проявили колмик-Е ($28,9 \pm 0,4$ мм), энрофлон ($28,8 \pm 0,4$ мм), тилозина тартрат ($27,7 \pm 0,5$), энроксил ($27,5 \pm 0,6$ мм) и киноэкс ($27,3 \pm 0,6$ мм) Культуры *E coli* оказались чувствительными к коливету, гентамицину и ципрофлоксацину; малочувствительными к неомичину, тетрациклину и левомицетину

2.4.3. Токсигенность выделенных культур кластридий и эшерихий *in vivo*

Для определения токсигенности возбудителей использовали 16-часовую бульонную культуру *Cl perfringens* тип D и 18-часовую культуру *E coli* серотип O₇₈

Во всех опытных группах оценивали токсигенность изучаемых культур Данный показатель основывался на способности возбудителя размножаться из малого инокулюма, на способности оказывать общее токсическое действие на организм (клиническая картина, интенсивность поражения внутренних органов) и на сроках гибели белых мышей

Результаты экспериментальных исследований показали гибель мышей из контрольной группы (интактная) не наступила При вскрытии убитых особей этой группы, видимых патологических изменений органов и тканей не наблюдали

Исследуемые культуры кластридий (2 опытная группа) в дозе заражения 0,5 мл оказались высокотоксигенными для лабораторных животных Заболеваемость 100% Гибель большинства белых мышей наступила через 18 часов после их заражения (погибло 9 особей) Смертность в группе составила 90 (на 100 голов) При патологоанатомическом вскрытии обнаружены признаки, свидетельствующие о токсическом течении инфекционного процесса При бактериологическом исследовании выделили исходную культуру кластридий из печени и кишечника

В 3 опытной группе (заражение культурой эшерихий) отмечали схожую картину Заболеваемость составила 100% В силу острого течения болезни, клиническая картина отсутствовала Через 18 часов после заражения погибло 9 мышей, а через 20 часов, погибла 10 мышь Смертность в группе составила 100 (на 100 голов) Проведение бактериологических исследований позволило выделить исходную культуру эшерихий из печени, сердца и кишечника

В результате проведенного опыта установлено, что культуры *Cl perfringens* типа D и *E coli* серотип O₇₈ являются высокотоксигенными для белых мышей

2.4.4. Особенности инфекционного процесса, вызванного у цыплят-бройлеров *Cl. perfringens*, *Cl. perfringens* + *E. coli*, при различных методах искусственного заражения

Для проведения эксперимента было сформировано 7 групп цыплят-бройлеров (6 опытных и одна контрольная) 25-дневного возраста, по 10 особей в каждой Культуры вводили тремя различными методами: алиментарно, субкутанно и интраперитонеально

Результаты экспериментальных исследований показали, что независимо от метода заражения, изменения происходили у цыплят во всех опытных группах

Как правило, отмечали схожую клиническую картину на 2 день после заражения – вялость, угнетение, отказ от корма. На 3 день с момента заражения добавлялись признаки перемежающихся диареи и запоров помет разжижен, пушок вокруг клоаки загрязнен испражнениями. Однако, клиническая картина при интраперитонеальном заражении, а также при заражении алиментарно и субкутанно культурой *Cl perfringens* в ассоциации с *E coli*, вызвала типичные изменения с одним отличием – все симптомы болезни развивались в течение 24–48 часов. Спустя 1–2 часа птица падала и в судорогах погибала. Показатели смертности отражены в таблице 1

Таблица 1 – Смертность цыплят-бройлеров при искусственном заражении *Cl. perfringens* и *Cl. perfringens* + *E. coli* разными методами

Метод заражения	Опытные группы						Контрольная группа (интактная)		
	<i>Cl perfringens</i>			<i>Cl perfringens</i> + <i>E coli</i>			заболело голов	погибло голов	смертность
	заболело голов	погибло голов	смертность	заболело голов	погибло голов	смертность			
Алиментарно	4	3	30	8	8	80	–	–	0
Субкутанно	6	5	50	9	8	80	–	–	0
Интраперитонеально	9	8	80	10	10	100	–	–	0

Следует отметить, что, независимо от метода заражения культурами *Cl perfringens*, *Cl perfringens* + *E coli*, интенсивность поражения внутренних органов не изменялась, но отмечали различие форм болезни при патологоанатомическом вскрытии

Так, при алиментарном заражении у цыплят регистрировали кишечную форму, характеризовавшуюся локализацией основных поражений в желудочно-кишечном тракте: острый катарально-геморрагический энтерит, содержимое кишок пенистое, жидкой консистенции, с примесью крови, иногда с пузырьками газа, на слизистой оболочке кишечника – множественные полосчатые и петехиальные кровоизлияния. Почки гиперемированы, размягчены, с обширными кровоизлияниями. Гиперплазия селезенки. Острое расширение сердца, дистрофия миокарда.

Субкутанному заражению свойственна печеночная форма с характерной для нее ярко выраженной дистрофией, кровенаполненностью и полосчатыми кровоизлияниями. Цвет печени от глинистого до темно-вишневого. Часто регистрировали гиперплазию селезенки, наличие фибринозного перикардита, острое расширение сердца, дистрофию миокарда. Сердечная сорочка, грудные и брюшные воздухоносные мешки покрыты пленками фибрина. Слизистая оболочка тонкого и толстого отделов кишечника гиперемирована, покрыта фибрином.

Картина патологоанатомического вскрытия при интраперитонеальном заражении идентична кишечной и печеночной формам, но характеризовалась комплексным проявлением всех вышеперечисленных признаков.

Инфекционный процесс и сроки продолжительности жизни цыплят, зараженных культурой возбудителя *Cl perfringens* алиментарно или субкутанно, вызывал типичные изменения в клинической и патологоанатомической картинах, характерные для данной болезни в производственных условиях. Интраперитонеальное заражение монокультурой и культурой *Cl perfringens* в ассоциации с *E coli* вызывало острое течение инфекционного процесса, что в дальнейшем было учтено нами при проведении опыта в экспериментальных условиях по заражению цыплят-бройлеров с целью изучения схем профилактики и лечения.

2.5. Экспериментальное изучение эффективности схем использования различных лечебно-профилактических препаратов при болезнях, вызванных у кур искусственным заражением культурами *Cl. perfringens*, а также *Cl. perfringens* + *E. coli*

В опыте использовали цыплят, из которых методом аналогов были скомплектованы 12 групп по 10 особей в каждой. Всего в опыте использовали 240 клинически здоровых цыплят-бройлеров кросса «Корниш», породы «Сибиряк» (120 особей в первой и 120 особей во второй сериях опыта).

Таблица 2 – Схема профилактики и лечения анаэробной энтеротоксемии кур как моноинфекции, так и в ассоциации с козибактериозом

Группа	Количество голов, п	Препарат	Период дачи препарата
1 контрольная (интактная)	10	не применяли	
2 контрольная (зараженная <i>Cl perfringens</i>)	10	не применяли	
3 опытная	10	колмик-Е бифитрилак	за 3 часа до заражения
4 опытная	10	колмик-Е бифитрилак	через 3 часа после заражения
5 опытная	10	колмик-Е бифитрилак	одновременно с заражением
6 опытная	10	колмик-Е бифитрилак	за 2 дня до заражения
7 опытная	10	колмик-Е бифитрилак	через 2 дня после заражения
8 опытная	10	энроксил бифитрилак	за 3 часа до заражения
9 опытная	10	энроксил бифитрилак	через 3 часа после заражения
10 опытная	10	энроксил бифитрилак	одновременно с заражением
11 опытная	10	энроксил бифитрилак	за 2 дня до заражения
12 опытная	10	энроксил бифитрилак	через 2 дня после заражения

Для профилактики и лечения анаэробной энтеротоксемии кур как моноинфекции (первая серия опыта), так и в ассоциации с колибактериозом (вторая серия опыта), применяли препараты колмик-Е и энроксил (с учетом чувствительности к ним выделенных культур *in vitro*) в сочетании с пробиотиком бифитрилаком в течение 7 дней согласно схеме опыта (табл. 2) Наблюдение за птицей вели в течение 14 дней

По результатам взвешивания птицы первой серии опыта (заражение возбудителем *Cl perfringens*), наименьшее отставание по живой массе отмечали в 3 (1308,1±4,52 г), 6 (1398,0±2,90 г) и 11 (1347,7±4,57 г) группах по сравнению с 1 – контрольной группой (интактная) (1398,5±3,25 г). Во 2 (870,0±30,00 г), 5 (1267,8±2,85 г), 7 (1200,0±2,43 г), 9 (1256,4±3,03 г) и 12 (1147,5±3,81 г) группах зарегистрировали наименьший прирост живой массы по сравнению с 1 – контрольной группой (интактная)

По результатам взвешивания птицы второй серии опыта (заражение возбудителем *Cl perfringens* в ассоциации с *E coli*), наименьшее отставание по живой массе отмечали в 3 (1295,0±4,62 г), 6 (1321,8±3,65 кг) и 11 (1240,6±2,20 г) группах по сравнению с 1 – контрольной группой (интактная) (1401,0±3,31 г). Во 2 (785,0±15,00 г), 9 (1101,6±2,10 г), 10 (976,0±6,20 г) и 12 (1061,0±4,30 г) группах зарегистрирован наименьший прирост живой массы по сравнению с 1 – контрольной группой (интактная)

Анализ полученных данных по смертности цыплят в первой серии опыта свидетельствует, что наилучший эффект достигнут в 1 (смертность – 0), 6 (смертность – 0) и 11 (смертность – 10 на 100 голов) группах. Анализ полученных данных по смертности во второй серии опыта показал, что наилучшие показатели за период опыта цыплят-бройлеров были достигнуты в 1 (смертность – 0), 3 (смертность – 20), 6 (смертность – 20) и 11 (смертность – 20 на 100 голов) группах

Таким образом, установлено, что использование для профилактики и лечения колмика-Е в сочетании с бифитрилаком способствует сохранению живой массы и низкой смертности, тогда как применение энроксила в сочетании с бифитрилаком не позволило достичь ожидаемой живой массы у цыплят и лишь незначительно снизило их смертность

2.6. Производственное испытание наиболее эффективных схем профилактики и лечения цыплят при анаэробной энтеротоксемии, проявляющейся как в виде моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом

Профилактику болезней проводили согласно схеме опыта (табл. 3.)

Контроль эффективности применяемых схем профилактики осуществляли с использованием клинического, патологоанатомического и бактериологического методов диагностики. Наблюдение за птицей вели в течение 21 дня

Применение различных схем профилактики анаэробной энтеротоксемии как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом, отразилось на приросте живой массы цыплят. Наибольший прирост (1153 г) зафиксирован в 1 опытной группе,

тогда как в контрольной и 2 опытной группе он составил 825 г и 1020 г, соответственно. Применение рекомендуемой нами схемы (1 опытная группа) обеспечило сохранность цыплят – 99,54%, что на 2,07% больше по сравнению со 2 опытной группой и на 6,38% больше по сравнению с контрольной группой

Таблица 3 – Схема профилактики цыплят при анаэробной энтеротоксемии как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом, в производственных условиях

Группа	Количество голов, n	Схема лечения		
		возраст, дней	препарат	дозировка
Контрольная (по схеме хозяйства)	1300	1–5	кинзокс	1 мл на 1 л воды
		25–30	тилозина тартрат	0,250 кг на 1 т корма
1-я опытная	1300	1–42	бифитрилак	1 кг на 1 т корма
		18–24	колмик-Е	1 мл на 1 л воды
2-я опытная	1300	1–42	бифитрилак	1 кг на 1 т корма
		18–24	энроксил	1 мл на 1 л воды

Для испытания схем лечения анаэробной энтеротоксемии как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом, в производственных условиях также было сформировано 3 группы цыплят по 1300 особей. Лечение проводили согласно схеме опыта (табл 4) Наблюдение за птицей вели в течение 14 дней.

Таблица 4 – Схема лечения цыплят при анаэробной энтеротоксемии как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом, в производственных условиях

Группа	Количество голов, n	Схема лечения		
		возраст, дней	препарат	дозировка
Контрольная (по схеме хозяйства)	1300	30–34	тилозина тартрат	0,250 кг на 1 т корма
1-ая опытная	1300	30–36	колмик-Е	1 мл на 1 л воды
		30–42	бифитрилак	1 кг на 1 т корма
2-ая опытная	1300	30–36	энроксил	1 мл на 1 л воды
		30–42	бифитрилак	1 кг на 1 т корма

По результатам опыта установили, что клинические и патологоанатомические изменения во многом схожи с таковыми в предыдущем опыте. В основном инфекционный процесс имел острый или молниеносный характер

При бактериологическом исследовании у цыплят 1 опытной группы токсигенные культуры клостридий и эшерихий не выделяли на протяжении всего опыта. От цыплят 2 опытной группы была изолирована лишь патогенная кишечная палочка. Тогда как в контрольной группе, помимо патогенных эшерихий, от цыплят выделяли токсигенные культуры клостридий. Это указывает на то, что культуры клостридий и

эшерихий высокочувствительны к колимику-Е. К энроксилу же чувствительна только кишечная палочка, а клостридии слабочувствительны. Возбудители анаэробной энтеротоксемии и колибактериоза менее чувствительны к тилозину тартрату.

По результатам взвешивания птицы, наибольший прирост зафиксирован в 1 опытной группе – 757 г. Данная схема лечения позволила получить живую массу у цыплят на 527 г больше по сравнению с контрольной группой (лечение по схеме хозяйства) и на 127 г больше по сравнению со 2 опытной группой. Применение предлагаемой нами схемы лечения (1 опытная группа) позволило достигнуть сохранности цыплят 98,47%, что на 2,7% больше по сравнению со 2 опытной группой и на 10,23% больше по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, предлагаемые нами схемы могут быть рекомендованы как один из методов в системе мер борьбы и профилактики при анаэробной энтеротоксемии, как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом.

2.7. Экономическая эффективность схем лечебно-профилактических мероприятий при анаэробной энтеротоксемии как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом, в производственном опыте

Экономический эффект от применения различных схем профилактики анаэробной энтеротоксемии как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом на один рубль затрат в расчете на 1300 голов в первой опытной группе составил 2201,13 руб., во второй опытной группе – 1947,72 руб., а в контрольной группе (по схеме хозяйства) – 1436,74 руб.

Экономический эффект от применения различных схем лечения анаэробной энтеротоксемии как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом на один рубль затрат в расчете на 1300 голов в первой опытной группе составил 2627,68 руб., во второй опытной группе – 2357,69 руб., а в контрольной группе – 1456,15 руб.

3. ВЫВОДЫ

1. Энтеротоксемия кур, обусловленная *Cl perfringens*, широко распространена на бройлерных и яичных птицефабриках Омской области. Циркулируют два типа возбудителя *Cl perfringens* тип С (25%) и D (75%). В этиологической структуре заболеваемости и гибели птицы при бактериальных инфекциях клостридии занимают четвертое место (после *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa*). Подвержены заболеванию анаэробной энтеротоксемией цыплята (58% случаев), затем взрослая птица (35%) и молодка (7%). В большей степени эта болезнь проявляется среди кур мясных пород (76%), чем среди кур яичных пород (24%).

2. Частота проявления анаэробной энтеротоксемии во многом зависит от качества потребляемой воды, уровня микробной обсемененности воздуха, типа содержания птицы. Так при содержании на полу (глубокая несменяемая подстилка) болезнь возникает с 20, на сетке – с 25-30, а в клетке – начиная с 60-дневного

возраста. Заболеваемость и гибель кур от анаэробной энтеротоксемии отмечаются в течение всего года, однако пики смертности приходятся на март-октябрь.

3 Анаэробная энтеротоксемия, как моноинфекция, зарегистрирована среди кур в 7% случаев. Причиной заболеваемости и гибели птицы в 52% случаев оказались ассоциации клостридий с эшерихиями, в 21% случаев – с сальмонеллами, в 14% случаев – с микоплазмами, в 4% случаев – со стафилококками и в 2% случаев – с пастереллами.

4 Культуры *Cl perfringens*, выделенные от кур, высокочувствительны к колмику-Е ($30,7 \pm 0,7$ мм), энроксилу ($29,2 \pm 0,4$ мм) и энрофлону ($27,2 \pm 0,6$ мм), чувствительны к киноэксу ($19,2 \pm 1,0$ мм) и тилозину тартрату ($16,5 \pm 0,5$ мм), малочувствительны к коливету и ципрофлоксацину, устойчивы к левомицетину, неомицину, тетрациклину и гентамицину. В отношении *E coli* наилучшую антибактериальную активность проявили колмик-Е ($28,9 \pm 0,4$ мм), энрофлон ($28,8 \pm 0,4$ мм), тилозина тартрат ($27,7 \pm 0,5$), энроксил ($27,5 \pm 0,6$ мм) и киноэкс ($27,3 \pm 0,6$ мм). Культуры *E coli* оказались чувствительными к коливету, гентамицину и ципрофлоксацину, малочувствительными к неомицину, тетрациклину и левомицетину.

5 В условиях эксперимента при искусственном заражении цыплят культурой *Cl perfringens*, *Cl perfringens* в ассоциации с *E coli*, препарат колмик-Е в сочетании с пробиотиком бифитрилаком оказали выраженное действие при введении их в организм с профилактической целью – за два дня до заражения, а с лечебной целью – не позднее трех часов после заражения. Полученные результаты подтверждены в производственных условиях (сохранность цыплят составила от 98,47 до 99,54%).

6 Экономический эффект на один рубль затрат от применения препарата колмик-Е в сочетании с пробиотиком бифитрилаком в расчете на 1300 цыплят при анаэробной энтеротоксемии как моноинфекции, так и в ассоциации с колибактериозом с лечебной целью составил – 2627,68 руб., с профилактической – 2201,13 руб.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

По материалам диссертационных исследований разработаны методические рекомендации «Профилактические и противозпизоотические мероприятия при энтеротоксемии кур, обусловленной *Clostridium perfringens*», утвержденные научно-техническим советом ИВМ ФГОУ ВПО ОмГАУ и Центром научного обеспечения АПК Омской области при Министерстве сельского хозяйства и продовольствия Омской области (протокол № 2 от 20 марта 2008 г.)

Данные диссертационной работы рекомендуется использовать в учебном и научно-исследовательском процессе на ветеринарных факультетах при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по микробиологии, эпизоотологии, а также на курсах повышения квалификации ветеринарных врачей.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Эффективность лечебно-профилактического действия энрофлона при инфекционной анаэробной энтеротоксемии цыплят 30-ти дневного возраста / Соавт : В Г. Берина, В И. Черкашина // Проблемы ветеринарного образования и научных исследований в агропромышленном комплексе – Омск изд-во ФГОУ ВПО ИВМ ОмГАУ, 2004 – С. 172–177

2 Эпизоотическая ситуация по инфекционной анаэробной энтеротоксемии (клостридиозу) кур на птицефабриках Омской области / Соавт И Г Трофимов, Л И. Черкашина // Научные и практические проблемы ветеринарной медицины, животноводства и перспективы их решения : сб науч тр – Омск изд-во ФГОУ ВПО ОмГАУ, 2006. – С. 103–108

3 Чувствительность возбудителя инфекционной анаэробной энтеротоксемии к некоторым антимикробным препаратам / Соавт : И.Г Трофимов, Л И. Черкашина // Научные и практические проблемы ветеринарной медицины, животноводства и перспективы их решения : сб науч. тр. – Омск . изд-во ФГОУ ВПО ОмГАУ, 2006. – С 109–110

4. Влияние различных систем содержания кур в распространении инфекционной анаэробной энтеротоксемии / Соавт. И Г. Трофимов // Современные проблемы устойчивого развития агропромышленного комплекса России / Матер 4-й Всероссийской дистанционной науч практ конф студентов, аспирантов и молодых ученых. – пос Персиановский изд-во ДонГАУ, 2007 – С. 86–88.

5. Сравнительные методы заражения цыплят-бройлеров культурой возбудителя *Cl perfringens*, *Cl perfringens* + *E coli* / Соавт. И.Г. Трофимов // Современные проблемы устойчивого развития агропромышленного комплекса России / Матер. 4-й Всероссийской дистанционной науч. практ конф студентов, аспирантов и молодых ученых. – пос. Персиановский . изд-во ДонГАУ, 2007. – С. 88–90.

6 Энтеротоксемия кур / Соавт И Трофимов // Птицеводство – 2007. – № 12 – С 35

7 Особенности ассоциативного течения при инфекционной анаэробной энтеротоксемии птиц / Соавт. И.Г. Трофимов, Л И Черкашина // Проблемы ветеринарной и зоотехнической наук и пути их решения сб. науч тр – Омск изд-во ФГОУ ВПО ОмГАУ, 2007. – С. 122–125.

8. Профилактика инфекционной анаэробной энтеротоксемии кур с использованием препарата Диксам / Соавт. И.Г Трофимов // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: матер III Сибирской ветеринарной конф. – Новосибирск, 2008 – С 221–223.

Печать оперативная Бум офсетная Формат 60×84 ¹/₁₆
Гарнитура «Times New Roman»
Усл -печ л 1,16 Уч -изд л 1,2. Тираж 100 экз Заказ 31

Отпечатано в копировально-множительном центре ИВМ ОмГАУ,
644122, г Омск, ул Октябрьская, 92