ЛИЗИС-ТЕСТ И БИОПРОБА ПО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЗАРАЖЕНИЮ ТЕЛЯТ БУКСТОНЕЛЛАМИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА ЦИСТОДЕЗ

Сафиуллин Р. Т.¹,

доктор ветеринарных наук, профессор,
заведующий лабораторией Санитарной паразитологии

Шибитов С. К.¹,

кандидат ветеринарных наук,
ведущий научный сотрудник лаборатории

Аннотация

Для борьбы с паразитическими простейшими крупного рогатого скота и, прежде всего эймериозов, предложены препараты эффективные как против экзогенных стадий, так и эндогенных. В отношении букстонеллеза крупного рогатого скота раньше такие исследования не проводились. Лизис-тест проводили с различными концентрациями препарата цистодез, а биопробу осуществляли для определения эффективности препарата для дезинвазии. Эффективность дезинвазии при назначении различных концентраций препарата цистодез, а также 4%-й концентрацией базового препарата фенола определяли, исходя из процента снижения выделения цист букстонелл после воздействия на них отмеченных выше препаратов и концентраций по сравнению с телятами зараженного контроля, которым назначали по 200 цист/мл. Интенсэффективность препарата Цистодез в 3% концентрации составила 97,9%, а в концентрациях 4 и 5% препарат показал 100%-ую эффективность. Проведенные производственные испытания показали, что комплексный препарат цистодез 4%-й для дезинвазии объектов внешней среды в скотоводческих хозяйствах в дозе 0,5 л на 1 м² при экспозиции 2 часа показал против цист букстонелл 92,32%-ю интенсэффективность. Предложенное средство, включающее в себя использование комплексного концентрированного препарата цистодез против цист букстонелл, обеспечивает высокую интенсэффективность при букстонеллезе крупного рогатого скота.

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (117218 г. Москва, ул. Б. Черемушкинская, д. 28)

Ключевые слова: букстонеллез крупного рогатого скота, лизис-тест, биопроба, эффективность цистодеза в опыте, интенсивность.

LYSIS TEST AND BIOASSAY FOR EXPERIMENTAL INFECTION OF CALVES WITH BUXTONELLA TO DETERMINE THE EFFECTIVENESS OF THE DRUG CYSTODESIS

Safiullin R. T.¹,

Doctor of Veterinary Sciences, Professor,
Head of the Laboratory of Sanitary Parasitology

Shibitov S. K.¹,

Candidate of Veterinary Sciences,
Leading Researcher of the Laboratory

Abstract

To combat the parasitic protozoa of cattle and, above all, eimeriosis, preparations have been proposed that are effective against both exogenous and endogenous stages. Such studies have not been conducted before in relation to cattle buxtonellosis. The lysis test was performed with various concentrations of the cystodesis drug, and the bioassay was carried out to determine the effectiveness of the drug for disinvasion. The efficacy of disinvasion in the appointment of different concentrations of the drug cystodesis, as well as 4% concentration of the basic drug phenol was determined based on the percentage reduction in the allocation of cysts Buxtonella after exposure to the above-mentioned drugs and concentrations compared to calves infected controls, which were prescribed 200 cysts / ml. Intensity of the drug Cystodesis in 3% concentration was 97.9%, and in concentrations of 4 and 5%, the drug showed 100% efficiency. Conducted production tests showed that the complex preparation of cystodesis 4% for disinvasion of environmental objects in cattle farms in a dose of 0.5 l per 1 m² at an exposure of 2 hours showed 92.32% intensity against cysts Buxtonella. The proposed tool, which includes the use of a complex concentrated drug cystodesis against cysts Buxtonella, provides high intensity efficacy for cattle buxtonellosis.

Studies of domestic and foreign scientists have established that every cattle-breeding farm that practices stall-walking maintenance with the use of pastures is

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – a Branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences” (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia)

unfavorable for parasitic diseases and, above all, for parasitic protozoa, among which buxtonellosis is most common due to the extensiveness of invasion. According to the literature in the intestines of cattle of different ages, one type of ciliates of *Buxtonella sulcata* parasitizes.

To combat the parasitic protozoa of cattle and, above all, eimeriosis, preparations have been proposed that are effective against both exogenous and endogenous stages. Such studies have not been conducted before in relation to cattle buxtonellosis. Based on the above, the problem of cattle buxtonellosis sets the task of researchers to develop measures to combat both exogenous and endogenous stages of invasion development and, above all, to develop a method for disinvasion of environmental objects against cysts Buxtonella.

Keywords: cattle buxtonellosis, lysis-test, bioassay, test of the effectiveness of cystotodesis in experience, intensefficacy.

Введение. Исследованиями отечественных и зарубежных ученых установлено, что каждое скотоводческое хозяйство, практикующее стойлово-выгульное содержание с использованием пастбищ, неблагополучно по паразитарным болезням и, прежде всего, паразитическим простейшим, среди которых по экстенсивности инвазии наиболее часто встречается букстонеллез. По данным литературы в кишечнике крупного рогатого скота разного возраста паразитирует один вид инфузорий *Buxtonella sulcata* [1, 2, 5].

Для борьбы с паразитическими простейшими крупного рогатого скота и, прежде всего эймериозов, предложены препараты эффективные как против экзогенных стадий, так и эндогенных. В отношении букстонеллеза крупного рогатого скота раньше такие исследования не проводились. Исходя из отмеченного, проблема букстонеллеза крупного рогатого скота ставит перед исследователями задачу разработать меры борьбы как с экзо-, так и эндогенными стадиями развития инвазии и, прежде всего, разработать способ дезинвазии объектов внешней среды против цист букстонелл [3, 4, 6].

Материалы и методы. Исследования по отмеченной проблеме проводили в лаборатории ФГБНУ «Всероссийский НИИ фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина (г. Москва). Для дезинвазии против цист букстонелл использовали комплексный препарат цистодез, содержащий в качестве действующих веществ: глутаровый альдегид, йод кристаллический, калий йодид и вспомогательный компонент — полиэтиленгликоль-400.

Для проведения исследований были приготовлены рабочие растворы с 3; 4 и 5%-ной концентрацией комбинированного препарата цисто-

дез, а в качестве базового препарата для сравнения использовали 4%-ный водный раствор фенола.

Приготовление рабочих растворов, разведений культуры цист букстонелл крупного рогатого скота и осуществление лизис-теста с разной концентрацией препарата цистодез проводили в условиях лаборатории института.

Для сбора цист букстонелл крупного рогатого скота использовали свежие фекалии от зараженных животных, которых исследовали в условиях лаборатории методом последовательных промываний и комбинированным методом. Собранный материал трижды промывали дистиллированной водой и концентрировали путем центрифугирования. Для разведения культуры цист букстонелл использовали дистиллированную воду, подсчитывали их количество в 1 мл под микроскопом.

Для проведения лизис-теста все приготовленные растворы дезинфектантов и дистиллированную воду (контроль) по отдельности поместили по 50 мл в 100 мл колбы и добавили по 20 мл раствора с цистами букстонелл крупного рогатого скота в концентрации 200 цист/мл. Затем эти колбы ставили на вибростол со скоростью вращения 100 об/мин на 2 часа. По истечении времени содержимое из колбы выливали в пластиковую бутылку с завинчивающейся крышкой объемом 1000 мл. Колбу с остатком раствора несколько раз ополаскивали и сливали в пластиковую бутылку и объем доводили до 1000 мл. Для лучшего смешивания бутылку переворачивали три раза и оставляли при комнатной температуре ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) в течение 24 часов. После этого раствор сливали до отметки 30 мл, осадок переливали в новую емкость объемом 100 мл, пластиковую бутылку ополаскивали несколько раз с использованием дистиллированной воды, доведя объем до 50 мл. Полученные после лизис-теста растворы использовали для экспериментального заражения телят.

Биопробу по экспериментальному заражению телят для определения эффективности препарата цистодез для дезинвазии проводили в условиях ОАО «Орловское» Московской области на 30 телятах 6-ти месячного возраста, свободных от букстонелл, и корма не содержали препараты против паразитических простейших. Для контроля концентрации букстонелл (200 цист/мл) в работе использовали камеру Мак Мастера и микроскоп МБС, а для разбавления дистиллированную воду с таким расчетом, чтобы было возможно ввести 5 мл суспензии каждому теленку с общим количеством букстонелл 1000 экз./

голову. Телят подвергали клиническому обследованию, индивидуальной нумерации, взвешиванию и по принципу аналогов разделили на шесть групп по 5 животных в каждой.

Телятам первой, второй и третьей групп задавали по 5 мл суспензии цист букстонелл, обработанной 3; 4 и 5%-ми растворами препарата цистодез внутрь при помощи мини зонда. Четвертой группе телят задавали по 5 мл суспензии цист букстонелл, обработанной 4%-м раствором фенола (базовый препарат). Телята пятой группы получали по 5 мл суспензии, содержащую цисты в количестве 200 экз./мл и служили зараженным контролем. Телята шестой группы получали по 5 мл дистиллированной воды и служили «чистым контролем».

Телята всех 6 групп за время опыта находились в аналогичных условиях содержания и имели одинаковый рацион. В течение всего периода опыта за телятами вели ежедневные клинические наблюдения за общим состоянием, их поведением, приемом корма и воды, видимыми физиологическими изменениями и другими показателями.

Для определения цист букстонелл в фекалиях от телят каждой группы отдельно с 6 по 12-е сутки ежедневно собирали все фекалии, взвешивали, добавляли воду до объема 3000 г, смешивали смесителем в течение 7 минут. Для дальнейших исследований пробы отбирали из каждой группы в количестве 50 г, которые консервировали 4%-м раствором бихромата калия и доводили до однородной массы путем размешивания миксером, затем переложили в пластиковые емкости с завинчивающейся крышкой и хранили в холодильнике при + 4°C.

Цист букстонелл в фекалиях определяли методом последовательных промываний, а их количество подсчитывали с использованием камеры Мак Мастера.

Эффективность дезинвазии при назначении различных концентраций препарата цистодез, а также 4%-й концентрацией базового препарата фенола определяли, исходя из процента снижения выделения цист букстонелл после воздействия на них отмеченных выше препаратов и концентраций по сравнению с телятами зараженного контроля, которым назначали по 200 цист/мл.

Результаты исследований. Общее состояние опытных телят после назначения суспензии букстонелл, обработанной разными концентрациями препарата цистодез, рекомендованной дозой фенола, а также чистой культурой цист букстонелл, оценивали по данным клинических наблюдений, которые показали наличие определенного угнетен-

ного состояния, они были малоактивны и стояли в станке, опустив голову. Каких-либо осложнений при назначении суспензии с цистами букстонелл и после нее не отмечено. Со второго дня после начала опыта по данным общеклинических наблюдений телята, получившие суспензию цист букстонелл, обработанную разными препаратами и их концентрациями, чистой культурой цист и контрольные не отличались друг от друга.

Исследования по определению цист букстонелл в фекалиях опытных телят, собранных с 6 по 12-е сутки после назначения обработанной дезинфектантами суспензии, их находили в определенном количестве, но не во всех группах. При исследовании опытных телят 1-й группы, которым давали суспензию цист, обработанную 3%-й концентрацией препарата цистодез, цист букстонелл в фекалиях находили через 3 и 5 суток в количестве 4 и 5 экз., что составляет 0,7 и 0,83 на камеру и средний показатель в 1-й камере за период исследований составил 0,22. Количество цист в г/фекалий составило 44 экз., что в проценте от контроля — 2,14. Отсюда, интенсивность цистодеза в 3%-й концентрации или процент снижения количества цист после воздействия на них препаратом составила 97,9%.

У телят 2 и 3-й групп, которым назначали суспензию цист, обработанную 4 и 5%-й концентрацией цистодеза, при исследовании проб фекалий ни в одном случае цист не находили, что дает нам основание отметить 100%-ю эффективность цистодеза в отмеченных концентрациях против цист букстонелл крупного рогатого скота.

У телят 4-й группы после дачи суспензии цист букстонелл, обработанной 4%-й концентрацией фенола (базовый препарат), цист в фекалиях находили во все сроки исследований в количестве от 1,3 до 5,1 в камере, а средний показатель в 1-й камере за период исследований составил 3,01. Количество цист в г/фекалий по данной группе равнялось 602, что составляет 29,2% от контроля. Отсюда, интенсивность фенола в 4%-й концентрации против цист букстонелл крупного рогатого скота составила 70,8%.

Телята 5-й группы, получавшие 200 цист/мл, во все сроки исследований с фекалиями выделяли цисты в количестве от 1,6 до 15,8 в камере и средний показатель в 1-й камере за период исследований составил 10,3. Количество цист в г/фекалий по этой группе составило 2060 и данный показатель нами использовался как исходный при расчете процента снижения количества цист или интенсивность испытаний в опыте препаратов.

Телята 6-й группы, которые получали дистиллированную воду без цист, служили незараженным контролем и во все сроки исследований оставались свободными от инвазии.

Для установления интенсивности использованных в своей работе дезинфектантов или процента снижения количества цист использовали следующую формулу:

$$\text{ИЭ} = \frac{\text{К}_{\text{цк}} - \text{К}_{\text{цд}}}{\text{К}_{\text{цк}}} = 100,$$

где ИЭ — интенсивность средства, %; $\text{К}_{\text{цк}}$ — количество цист у телят контрольной группы; $\text{К}_{\text{цд}}$ — количество цист у телят, получавших обработанные дезинфектантом цисты.

Используя полученные нами в опыте данные, определяли интенсивность цистозеда в 3%-й концентрации

$$\text{ИЭ} = \frac{2060 - 44}{2060} \times 100 = 97,9\% (\rho < 0,05).$$

В концентрациях 4 и 5% цистозед против цист букстонелл показал 100%-ю эффективность.

Использованный нами в качестве базового препарата фенол 4%-й показал против цист букстонелл крупного рогатого скота

$$\text{ИЭ} = \frac{2060 - 602}{2060} \times 100 = 70,8\text{-ю интенсивность.}$$

Заключение. Проведенные производственные испытания показали, что комплексный препарат цистозед 4%-й для дезинвазии объектов внешней среды в скотоводческих хозяйствах в дозе 0,5 л на 1 м² при экспозиции 2 часа показал против цист букстонелл 92,32%-ю интенсивность. Предложенное средство, включающее в себя использование комплексного концентрированного препарата цистозед против цист букстонелл, обеспечивает высокую интенсивность при букстонеллезе крупного рогатого скота.

Литература

1. Вершинин И.И. Кокцидиозы животных и их дифференциальная диагностика. Екатеринбург, 1996. 264 с.
2. Крылов М.В. Определитель паразитических простейших. СПб.: Зоологический институт РАН, 1996. 693 с.

3. Правила проведения дезинфекции и дезинвазии объектов госветнадзора. М., 2002. 74 с.
4. Сафиуллин Р.Т., Шибитов С.К. Средство для дезинвазии против цист букстонелл крупного рогатого скота. Патент №2673677. Бюл. №34 от 29.11.2018. 11 с.
5. Шибитов С.К., Сафиуллин Р.Т. Распространение *Buxtonella sulcata* крупного рогатого скота в Центральной зоне России. Ветеринария. 2016. №. 8. С. 36–38.
6. Шибитов С.К., Сафиуллин Р.Т., Качанова Е.О. Сравнительная характеристика гельминтоовоскопических методов диагностики для выявления цист *Buxtonella sulcata* крупного рогатого скота. Теория и практика паразитарных болезней животных. 2017. Вып. 18. С. 558–559.

Reference

1. Vershinin I. Coccidiosis of animals and their differential diagnosis. Ekaterinburg, 1996. 264 p. (In Russ.)
2. Krylov M.V. The determinant of parasitic protozoa. SPb., Zoological Institute RAS, 1996. 693 p. (In Russ.)
3. Rules for disinfection and disinfestation of state veterinary inspection facilities. М., 2002. 74 p. (In Russ.)
4. Safiullin RT, Shibitov S.K. Means for disinvasion against the cysts Buxtonell of cattle. Patent № 2673677. Bul. N 34 from 11/29/2018. 11 p. (In Russ.)
5. Shibitov S. K., Safiullin R. T. Distribution of *Buxtonella sulcata* of cattle in the Central zone of Russia. *Veterinary science*. 2016; (8): 36–38. (In Russ.)
6. Shibitov S. K., Safiullin R. T., Kachanova E. O. Comparative characterization of helminth-assisted diagnostic methods for detecting cysts *Buxtonella sulcata* of cattle. *Theory and practice of parasitic animal diseases*. 2017; (18): 558–559. (In Russ.)