

На правах рукописи



ТРОШИН АЛЕКСЕЙ АНДРЕЕВИЧ

**ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА
ЭШЕРИХИОЗА ТЕЛЯТ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ**

4.2.3. Инфекционные болезни и иммунология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Краснодар – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Гугушвили Нино Нодариевна

Официальные оппоненты: **Беляев Валерий Анатольевич**
доктор ветеринарных наук, профессор
кафедры терапии и фармакологии
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Красникова Екатерина Сергеевна
доктор ветеринарных наук, профессор
кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» ФГБОУ ВО
Вавиловский университет

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана»

Защита состоится « 25 » июня 2024 г. в 10:00 в ауд. № 1 факультета ветеринарной медицины на заседании диссертационного совета 35.2.019.02 при ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» и на сайте: <http://www.kubsau.ru>.

Автореферат размещен на официальных сайтах ВАК Минобрнауки России: <http://vak.ed.gov.ru> и ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»: <http://www.kubsau.ru>.

Автореферат разослан « » _____ 2024 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Винокурова Диана Петровна

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Развитие сельскохозяйственного производства и личного хозяйства граждан нашей страны часто сдерживается заболеваемостью животных. В скотоводстве повсеместно распространен эшерихиоз – инфекционная болезнь телят с признаками диареи.

Одни авторы и отрасли ветеринарии рассматривают болезни с острым диарейным синдромом как инфекционные с существованием возбудителя, а другие – как незаразные, указывая на первичность нарушений кормления и содержания в их этиологии [Антипов В. А., 2009; Джупина С. И., 2015; Терехов В. И., 2000, 2016; Шевченко А. А., 2017, 2020]. Вместе с тем, и в первом, и во втором случаях они отмечают нарушения пищеварения, дисбактериоз и существенную роль *E. coli* в этиопатогенезе, рекомендуя для лечения антимикробные средства.

Проявляя заботу о здоровье населения, переработчики мяса, молока и другой животноводческой продукции в своей работе используют «Сан-ПиН 2.3.2.1078-01. Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» и «Перечень ветеринарных лекарственных средств (фармакологически активных веществ), максимально допустимые уровни остатков которых могут содержаться в не переработанной пищевой продукции животного происхождения», утвержденный Решением Коллегии Евразийской экономической комиссии от 13 февраля 2018 г. № 28. Соблюдение этих требований ставит ветеринарных специалистов в сложные условия, что и определяет актуальность усовершенствования лечебно-профилактических мероприятий при наиболее распространенных болезнях животных, в том числе и при эшерихиозе телят.

Возбудители эшерихиозов животных представляют угрозу и отмечены в этиопатогенезе острых кишечных инфекций у человека [Циммер К., 2016; Maini J., 2013]. Это обуславливает актуальность постоянного мониторинга и совершенствования контроля эшерихиозов у животных, является предметом исследований и темой научных работ отечественных и зарубежных институтов и исследователей [Гугушвили Н. Н., 2012; Скориков А. В., 2014; Duse A., 2015].

Быстрое размножение и изменчивость микроорганизмов, определяющие возникновение антибиотикоустойчивых штаммов, требуют рациональной смены лекарственных средств. Одной из возможностей решения поставленной задачи является применение комплексных препаратов [Шабунин С. В., 2010, 2019], но их применение ограничивается риском множественной контаминации продукции животноводства ими и их метаболитами. Использование антимикробных средств, не содержащих антибиотиков, требует режима высоких доз и не технологично [Черновская А. А., 2008]. В сложившейся ситуации перспективными, зарегистрированными в РФ антибиотиками цефалоспоринового ряда третьего и четвертого поколений яв-

ляются лекарственные средства на основе фармакологических субстанций цефтиофура гидрохлорида и цефкинома сульфата [Трошин А. Н., 2019].

Препараты цефанекс 100, цефкином 45, ретивет, разработаны автором данной работы в условиях ветеринарной научной организации АНО «Ветеринарная фармацевтика». Изготавливаются НПВП «Ветфарм», апробированы в АО «ХК Ак Барс» Республики Татарстан, внедрены в ветеринарную практику ООО «Ана Юг» Брюховецкого района, ООО «Лотос» Динского района, КФХ «Чайка А.Д.» и КФХ «Чайка Т.А.» Тимашевского района и других хозяйствах Краснодарского края и ЮФО.

Степень разработанности темы исследования. Современное скотоводство неизбежно сталкивается и сопровождается болезнями животных, в число которых входит эшерихиоз телят. Вместе с тем, существуют средства специфических профилактики и лечения этой болезни. Имеются и разрабатываются средства и методы подавления эшерихий во внешней среде и в организме животных. Разработка этих научных исследований раскрыта в трудах В. Г. Зароза (1991), Р. А. Светоча (1992), Д. Д. Новак (1996), Х. З. Гаффарова (2002), G. Pearson (1979), J. Maini (2013) и других ученых. Моделирование эшерихиоза у различных лабораторных животных проводили Т. В. Колганова (2003), А. Х. Шантыз (2018), А. И. Борзилов (2021) и др. Управлению патогенезом и саногенезом при инфекционных болезнях животных, включая эшерихиоз, изучению средств повышения неспецифической резистентности животных посвятили свои работы В. А. Антипов (1986–2015), А. Г. Шахов (1995), Н. А. Трошин (1992, 1998), Н. Ю. Басова (1986–2022), В. И. Терехов (2002), Ю. Н. Федоров (2009), Н. Н. Гугушвили (2012, 2020), А. Г. Кошаев (2004–2023), R. Ashraf (2014) и Y.-I. Cho (2014). Разработки этих и других ученых России и зарубежья легли в основу выбора направления диссертационного исследования, а также методов, средств и способов при эпизоотологическом мониторинге, усовершенствовании диагностики и лечения эшерихиоза у лабораторных животных и телят в условиях промышленного животноводства в Краснодарском крае.

Цели работы включали эпизоотологический мониторинг, изучение показателей неспецифической иммунобиологической резистентности, усовершенствование диагностики, терапии, предупреждения возникновения эшерихиоза у молодняка крупного рогатого скота.

Цель работ состояла из разрешения следующих **задач**:

1. Изучить распространение и этиопатогенез эшерихиоза телят.
2. Усовершенствовать диагностику эшерихиоза путем разработки средств для определения чувствительности эшерихий к цефтиофура гидрохлориду и цефкинома сульфату.
3. Обосновать применение цефалоспоринов третьего и четвертого поколений для лечения эшерихиоза у телят.
4. Выявить показатели неспецифической резистентности, влияющие на течение и исход эшерихиоза у телят, предложить средства их коррекции.

5. Изучить некоторые иммунобиологические показатели у телят на фоне лечения эшерихиоза.

6. Усовершенствовать профилактику и лечение эшерихиоза телят в условиях промышленного животноводства в Краснодарском крае.

Научная новизна. Показана роль эшерихиоза в заболеваемости телят в структуре инфекционных болезней крупного рогатого скота в Краснодарском крае с 2017 до 2023 г. Представлены результаты эпизоотологического мониторинга болезней крупного рогатого скота, в том числе эшерихиоза в Краснодарском крае, за период с 2017 по 2023 гг. Впервые разработаны диагностические диски с цефкинома сульфатом, воспроизведены методом обратного инжиниринга диски с цефтиофура гидрохлоридом, что позволило усовершенствовать лабораторную диагностику чувствительности эшерихий к антимикробным средствам. Получены новые данные о влиянии пропиленгликоля на уровень глюкозы и кетоновых тел у телят месячного возраста. Доказано иммуностимулирующее действие средства ретивета, содержащего пропиленгликоль и ретинола пальмитат на организм лабораторных животных и телят. Впервые обосновано его применение и установлено влияние на некоторые показатели иммунобиологической резистентности при эшерихиозе у лабораторных животных и телят. Обоснована экономическая эффективность применения цефалоспоринов третьего и четвертого поколений, а также ретивета. Полученные данные послужили основой для разработки показаний к применению указанных средств и усовершенствованию контроля эшерихиозе у телят в Краснодарском крае.

Теоретическая и практическая значимость. Установлены распространение, причины, особенности этиопатогенеза эшерихиоза телят в Краснодарском крае. Разработаны диагностические диски с цефкиномом и цефтиофуром, лекарственные формы цефалоспоринов – препараты цефанекс 100 и цефкином 45, средство для повышения неспецифической резистентности ретивет, изучены их фармакологические свойства и эффективность разработанных средств в схеме терапии эшерихиоза у телят.

Результаты работы предлагаются для повышения эффективности контроля эшерихиоза телят.

Материалы, полученные в результате исследований и проведенных опытов в данной работе, используются при проведении лекций в ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии, а также дополнительном профессиональном образовании – повышении квалификации ветеринарных специалистов в условиях ветеринарной научной организации «Ветеринарная фармацевтика».

Методология и методы исследований. Материалистические, логически обоснованные, физико-химические и биологические закономерности взаимодействия микро- и макроорганизмов использованы в качестве методологической основы диссертационной работы, включавшей изучение свойств полевых штаммов кишечной палочки, а также современных спосо-

бов и этиотропных средств контроля эшерихиоза у телят, представленные в работах отечественных и зарубежных ученых. Методы исследований включали эпизоотологический анализ, моделирование эксперимента и воспроизведение болезни на лабораторных животных, клинические, лабораторные бактерио- и иммунологические исследования, фармацевтические и фармакологические подходы, а изучение показателей гомеостаза у телят при эшерихиозе – биохимическими и гематологическими методами. Используются современное аттестованное и поверенное лабораторное оборудование и реактивы; статистический и логический анализ, интерпретация полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты эпизоотологического мониторинга эшерихиоза телят в Краснодарском крае за 2017–2023 гг.
2. Вирулентность и сравнительная чувствительность возбудителя эшерихиоза к некоторым антимикробным средствам.
3. Биологические и физико-химические свойства диагностических дисков с цефтиофуromом и цефкиномом.
4. Экспериментальные данные моделирования и лечения эшерихиоза у лабораторных животных.
5. Результаты изучения влияния средства повышения неспецифической резистентности на заболеваемость и выздоровление животных при эшерихиозе.
6. Эффективность схем применения цефалоспоринов третьего и четвертого поколения, в том числе в комплексе с ретиветом в производственных условиях при этиопатогенетической терапии эшерихиоза у молодняка крупного рогатого скота.

Степень достоверности и апробация результатов. Анализ и обсуждение современного состояния проблемы, подходы к постановке экспериментов, полученные результаты и их применение в производственных условиях, с последующим анализом и рекомендациями производству согласуются и вытекают из цели и задач работы. Достоверность экспериментов доказана их многократной воспроизводимостью и статистической обработкой. Материалы доклинических экспериментов и их производственного применения, результаты лабораторных, доклинических и клинических исследований, составляющие представленную работу, рассматривались на Ученом совете факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ (2019–2023), заседаниях наблюдательного совета АННО «Ветеринарная фармацевтика» (2019–2023); V Международной научно-практической конференции «Институциональные преобразования АПК России в условиях глобальных вызовов» (Краснодар, 2020); Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, с международным участием «Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных» (Великие Луки, 2023, 2024), III Все-

российской (национальной) научно-практической конференции «Актуальные проблемы аграрной науки: прикладные и исследовательские аспекты» (Нальчик, 2023).

Личное участие автора. Теоретические и практические материалы и результаты работы получены и выполнены автором самостоятельно. При разработке методических подходов к выполнению отдельных задач и в соавторстве в опубликованных научных статьях с профессором Н. Н. Гугушвили и академиком А. Г. Коцаевым, которым автор выражает свои благодарности и признательность. Материалы собственных исследований получены автором лично, статистически и систематически обработаны, проанализированы. Опубликовано в периодических и научных изданиях. На основе результатов исследований автором сформулированы вводы и предложения по использованию результатов работы.

Публикации. Основные материалы и результаты научной работы опубликованы в 16 публикациях, в том числе из списка рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, для опубликования результатов работ на соискание ученой степени кандидата наук – 4.

Объем и структура диссертации. Текст диссертации напечатан на компьютере на 160 страницах. Работа состоит из разделов, включает введение и обзор литературы, материалы, методы и результаты собственных исследований. Приведены расчет экономической эффективности, обсуждение собственных исследований, заключение, включающее выводы, практические предложения и перспективы дальнейшей разработки темы. В списке литературы процитировано 216 источников, из них 39 иностранных авторов. В тексте диссертации 15 таблиц, 2 рисунка и 10 приложений.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 2015–2023 гг. на кафедре микробиологии, эпизоотологии и вирусологии факультета ветеринарной медицины ФБГОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина». Производственные исследования на животных проводили в ООО «Лотос» Динского района и в КФХ «Чайка Т. А.» Тимашевского района Краснодарского края. Лабораторные исследования в производственных лабораториях АННО «Ветфармацевтика» и НПВП «Ветфарм» г. Тимашевска Краснодарского края. Использовали данные статистики, ветеринарной отчетности, а также диспансеризации и эпизоотического обследования.

Объектом исследования являлся эпизоотический процесс, включая больных эшерихиозом мышей и телят, эшерихии, выделенные от больных животных, их вирулентность и чувствительность к цефалоспорином при определении методом диффузии в агар. При постановке опытов и проведении исследо-

ваний руководствовались Методическими указаниями по бактериологической диагностике эшерихиоза (эшерихиоза) животных (2000), методические указаниями по Определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (2004), Правилами проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения (2018). Микробиологические исследования предусматривали отбор биоматериала от больных телят. Животных отбирали из числа, в анамнезе которых не значатся обработки антимикробными средствами.

Исследования проводили поэтапно. На первом, моделировали эшерихиоз у лабораторных животных. В опытах использовали 48 белых мышей, массой от 16 до 18 г, подобранных по методу пар-аналогов. Их заражали выделенными от больных телят штаммами эшерихий K99. В первой серии опытов мышей лечили разработанными нами цефанексом 100 и цефкинома 45, в сравнении с окситетрациклином, в отрицательном – препаратов не применяли. Во второй серии опытов сравнивали между собой эффективность цефалоспоринов третьего и четвертого поколений при экспериментальном эшерихиозе, в том числе совместно с применением пропиленгликоля и ретинола пальмитата.

На втором этапе опытов разработали диски для диско-диффузионного метода определения чувствительности эшерихий к цефтиофура гидрохлориду и цефкинома сульфату (впервые). Для этого выделили и идентифицировали возбудителя болезни, патогенные штаммы эшерихий серовар K99. В качестве контрольного штамма использовали *E. coli* ATCC 25922. Для изготовления дисков использовали цефтиофура гидрохлорид (Амикоген) и цефкинома сульфат (Кили), производство Китай, зарегистрированные в РФ, аттестовали их по ГОСТ Р 8.871-2014 с использованием стандартов DRE-C11065020, Lot1144832 и DRE-C11064700, Lot G1125857 из каталога LGC, соответственно.

Работы проводили в асептическом блоке, оборудованном ламинарным боксом 2а класса биобезопасности – Белакилон 1,2. Использовали поверенное и аттестованное оборудование: весы OHAUS Pioneer PR224, посуду 1 класса точности, термометры Термекс LTA/2-НТС-НТС и СП 95, иономер И-160МИ, стерилизатор VK-18, термостат ТВ-20-ПЗ-(К), термотесты Винар. Среды агар Condalab 1068 и бульон Condalab 1224, их ростовые свойства определяли с использованием *Bac. subtilis* ATCC 6633. Количество микроорганизмов устанавливали по Мак Фарланду на спектрофотометре ПЭ-5400УФ. В третьем этапе исследований схемы опытов лечения эшерихиоза телят включали использование цефалоспоринов в сравнении с препаратами тетрациклинов и фторхинолонов, а в качестве средств патогенетической терапии, принятые в хозяйствах, где лечили животных (указаны в разделе собственные исследования). Диагноз устанавливали на основе клинических признаков, результатов бактериологического и серологического исследования ма-

териала от больных и павших животных. Проводили бактериологические исследования патологического материала и фекалий с целью установления рода и вида возбудителя, а также чувствительность возбудителя к антибиотикам. При постановке диагноза учитывали эпизоотическую ситуацию в хозяйстве [Методические указания, 2000, 2004; Шевченко А. А. и др., 2013].

В бактериологических использовали плотные среды Эндо, Минка и триптиказо-казеиновый агар. Посевы инкубировали при 37 °С в течение 24 ч. Затем просматривали и отбирали по 10 колоний. Микроорганизмы, выделенные на средах, идентифицировали наборами ЭНТЕРОтест 16, предназначенными для идентификации наиболее важных для патологии микроорганизмов семейства энтеробактерий, а из объектов внешней среды – КО-ЛИТест. Серологический профиль выделенных *E. coli* устанавливали с помощью типоспецифических О-агглютинирующих колизывороток (Армавирская биофабрика) и адгезивных колизывороток (ВНИИ прикладной микробиологии, г. Оболенск). Для обнаружения антител к *E. coli* методом ИФА использовали наборы реагентов Monoscreen AbELISA E.coli F5 (K99) и иммунохроматографические экспресс-тесты определения возбудителя диареи у телят Fassisi BoDia. Вирулентность выделенных штаммов изучали биопробой на мышах. Общий анализ крови, лейкоцитарную формулу определяли по общепринятым методикам. Измерения глюкозы и кетонов в крови прибором WellionVet BELUA. Биохимические показатели определяли с помощью наборов «Витал» на спектрофотометре ПЭ-5400УФ.

Схемы, дозировки, кратность и длительность применения лекарственных средств как в модельных опытах с мышами, так и у телят составляли согласно инструкциям по их применению эшерихиозе у телят. В частности, в первой серии опытов препарат цефанекс 100, во второй опытной группе – цефкином 45, а в третьей опытной (во второй серии опытов) – введение антибиотика дополнили внутренним применением препарата ретивет в дозе 1 г/кг массы, в четвертой и пятой – препараты окситетрациклина (в первой и второй сериях опытов) и энрофлоксацина (во второй серии опытов), а в пятой группе, контрольной (доклинические опыты на мышах) – лечение не осуществляли. Выздоровление оценивали по клиническим признакам с подтверждением результатами серологических исследований. В клинических исследованиях в использовали 108 телят, от одно- до трехнедельного возраста, подобранных по принципу пар-аналогов (рисунок 1).

Помимо этиотропной терапии применяли патогенетические и симптоматические средства. Включая внутривенное введение раствора Рингера-Локка, для восстановления водно-солевого баланса; пробиотик Бифидум-СХЖ один раз в сутки, внутрь, до выздоровления; «Иммунофан» и «Мульти-витамин инъекционный»; В качестве средства специфической терапии сыворотки антиадгезивной антитоксической против эшерихиоза сельскохозяйственных животных внутримышечно 50 мл, в два–три приема с интервалом 3–4 ч, повторно через 24–48 ч.

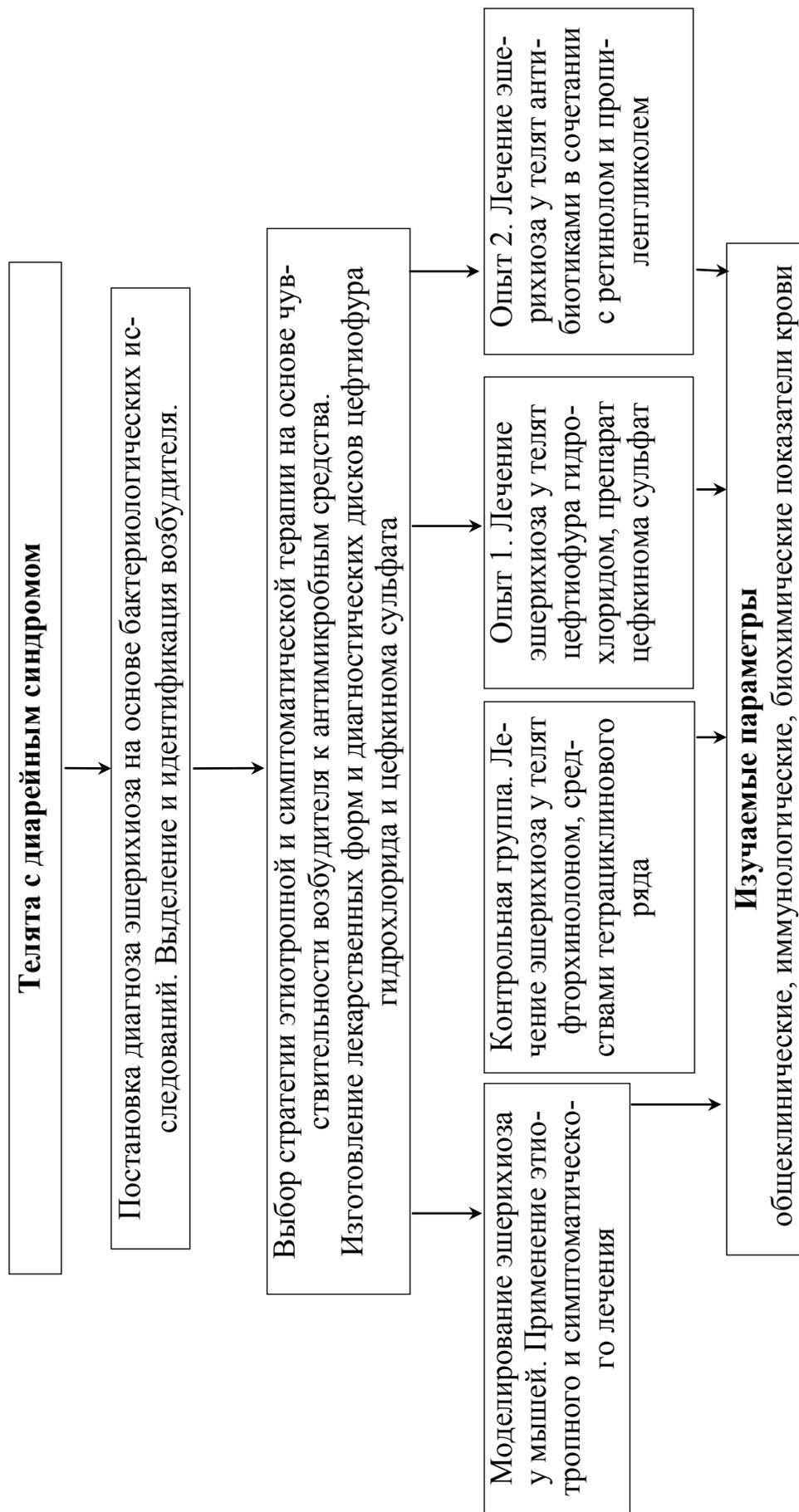


Рисунок 1 – Схема опыта

В производственных условиях, в сериях опытов на 72 телятах, применяли цефанекс, цефкином 45, а также цефанекс 100 в сочетании с ретиветом. При постановке опытов и для интерпретации результатов гематологических, иммунологических и биохимических исследований использовали методические пособия: Антиэндотоксиновый иммунитет в регуляции численности эшерихиозной микрофлоры кишечника [Лиходед В. Г., Бондаренко В. М., 2007], Иммунология [Госманов Р. Г. и др., 2018], Применение методов непараметрической статистики в исследованиях сельскохозяйственной биологии и ветеринарной медицины [Степанов В. Г., 2019].

Полученные результаты были подвергнуты биометрической обработке с помощью программного обеспечения фирм Microsoft, по И. А. Ойвину (1960), степень достоверности по распределению Стьюдента.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Эпизоотическая ситуация и роль эшерихиоза в инфекционной патологии крупного рогатого скота в Краснодарском крае

Эшерихиоз относится к III группе инфекций, для которых характерны широкая распространенность в условиях промышленного животноводства. В общей структуре заразных болезней крупного рогатого скота на Кубани эшерихиоз занимает видное место (таблица 1). В период с 2015 по 2023 гг. заболело 359 животных – от 0,38 до 9,03, в среднем 5,1 % от общей цифры всех случаев заразных болезней КРС в крае. Анализируя ветеринарную отчетность в Краснодарском крае за 2015–2023 гг., установили, что в период с 2015 до 2017 гг. заболеваемость и летальность росли с 34 до 84 животных, затем в 2020 г. снижались до 24, а в 2021 г. увеличивались до 33, затем существенно уменьшались до трех случаев в последние два года.

Число обработок при этой болезни с 2015 по 2017 гг. имело обратное значение – максимум в 2015 г. (316710) и минимум в 2017 г. (254985). Затем в 2023 г. их число составляло 262994 в год, из них 98,6 % в общественном секторе. Средние за 9 лет заболеваемость и летальность при этом снизились до 40 животных в год, до трех за последние два года. Это свидетельствует об эффективной стратегии контроля эшерихиоза в Краснодарском крае. Вместе с тем имеется эпизоотологический риск заболевания телят эшерихиозом, а также возникновения неблагоприятных последствий переболевания животных этой болезнью.

Первичной внешней детерминантой эшерихиоза у телят является возбудитель болезни – кишечная палочка, постоянно присутствующая как в кишечнике, так и на объектах внешней среды. Более подробно этот вопрос был рассмотрен в обзоре литературы.

Из числа вторичных внутренних детерминант, по направлению наших исследований, считаем необходимым рассмотреть некоторые аспекты влияния иммунного статуса на процесс выздоровления телят при эшерихиозе.

Эта гипотеза основана на имеющихся фактах рождения телят с морфофункциональной недостаточностью и дефицитом витамина А, которые способствуют развитию как незаразной патологии, так и осложняют, и затягивают выздоровление и при инфекционной, в частности эшерихиозе у телят.

Таблица 1 – Заболеваемость крупного рогатого скота заразными болезнями в 2015–2023 гг. в Краснодарском крае

Нозологическая единица	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023**	Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Бешенство	1						1			2
Бруцеллез	154	113	215	577	228	75	223	98	381	2064
Заразный узелковый дерматит		920								920
Колибактериоз	34	69	84	60	49	24	33	3	3	359
Лейкоз	433	255	313	232	285	414	278	472	391	3073
Лептоспироз	50		3			43				96
Прочие	35	39	24	28	10	5	17	17***	9****	184
Сальмонеллез	7									7
Туберкулез			291							291
Всего, сумма строк 1-10	714	1396	930	897	572	561	552	590	784	6996
% колибактериоза в соответствующем году	4,76	4,94	9,03	6,68	8,57	4,28	5,98	0,51	0,38	5,1*

Примечание: * – за 9 лет: ячейка «4–10» : ячейка «10–10» × 100 %; ** – из общего числа восприимчивого поголовья крупного рогатого скота в Краснодарском крае – 473710 в 2023 г., *** – из них 3 – стафилококкоз, 2 – энтеротоксемия, 12 – энтерококковая инфекция, **** – энтерококковая инфекция.

Популяцией риска являются телята 3–14 дневного возраста. Вместе с тем временем риска являются дни от рождения до 10-дневного возраста. Территорией риска являются животноводческие фермы. Коэффициенты заболеваемости телят эшерихиозом в Краснодарском крае, рассчитываемые как отношение заболевших животных к общему числу восприимчивых, составили: 2015 г. – 0,00011; 2016 г. – 0,00027; 2017 г. – 0,00033; 2018 г. – 0,00022; 2019 г. – 0,00018; 2020 г. – 0,00009; 2021 г. – 0,00012; 2022–2023 гг. уменьшился до 0,000006. В среднем за 7 лет, с 2015 по 2021 гг. включительно, коэффициент заболеваемости телят эшерихиозом в Краснодарском крае составил 0,0002. Сравнивая со средним региональным показателем, действующим с 1997 г., установленным на уровне 0,0029, следует отметить его снижение в Краснодарском крае в 14,5 раз. Наряду с этим надо отметить значительное возрастание летальности. Если средний коэффициент для России был установлен 1987 г. в значении 0,19, то в период с 2015 по 2023 гг. в Краснодарском крае он достигал 0,85–1. Это свидетельствует о повышении патогенности возбудителя болезни. Территориально, в указанный период за 2015–2023 гг., болезнь регистрировали в Белоглинском, Калининском, Кур-

ганинском, Лабинском, Приморско-Ахтарском, Северском, Староминском, Тимашевском, Тбилисском районах Краснодарского края, т. е. во всех территориально-климатических зонах, за исключением южной – курортной.

3.2 Усовершенствование (разработка диагностических дисков) определения чувствительности *E. coli* к цефтиофура гидрохлориду и цефкинома сульфату методом диффузии в агар

Постановка задачи усовершенствовать диагностику эшерихиоза путем разработки средств для определения чувствительности эшерихий к цефтиофура гидрохлориду и цефкинома сульфату обоснована отсутствием таких дисков в силу необходимости импортозамещения (первых) и необходимостью разработки их впервые (для вторых). Разработка диагностических дисков с цефтиофуром и цефкиномом для определения чувствительности методом диффузии в агар осуществлялась на модели стандартных и выделенных нами патогенных штаммов эшерихий к указанным антибиотикам. При этом следует отметить, что государственных стандартных образцов субстанций цефтиофура гидрохлорида и цефкинома сульфата по состоянию на 2022 г. не было утверждено, что послужило для нас основанием использования стандартных образцов фармацевтических субстанций из набора DRE (Германия) с последующей аттестацией с их помощью полученных нами от компании Amicogen и Qila соответствующих субстанций антибиотиков.

Первая серия опытов предусматривала контроль качества разработанных диагностических дисков с цефтиофура гидрохлоридом по 12 показателям. Подлинность устанавливали фармакопейным химическим тестом на хлориды и спектрофотометрически. Стандартный образец цефтиофура гидрохлорида DRE-C11065020, Lot1144832 имеет спектр раствора цефтиофура 0,010 мг/мл (1 диск на 3,3 мл растворителя) и широкое плечо светопоглощения от 220 до 320 нм с максимумом при $\lambda = 290 \pm 21,8$ нм ($\pm 7,5$ %). Количество цефтиофура гидрохлорида в диске определяли, экстрагировав его последовательно равными частями 2-пропанола, пропиленгликоля и воды. Установили содержание цефтиофура гидрохлорида в диске $30 \text{ мкг} \pm 10\%$ /диск. Стерильность определяли методом мембранной фильтрации. В ячейке фильтровальной ПВФ-47/1Б, № 11093, 47 мм, в ламинарном боксе, фильтровали испытуемый образец через фильтр 47 мм МФАС ОС 2, 0,45 мкм, способный улавливать микроорганизмы. После окончания фильтрации мембрану промыли 200 мл дистиллированной воды и асептически перенесли в питательную среду. Использовали соевоказеиновый бульон, ростовые свойства которого предварительно определяли с использованием *Bac. subtilis* В-4537 (АТСС 6633). Температура инкубации $22,5 \pm 2,5$ °С. Длительность инкубации составляла 2 нед. Во время инкубации периодически просматривали посеы. Наличие роста микроорганизмов определяли визуально в проходящем свете. По отсутствию роста микроорганизмов, установили, что испытуемые образцы соответствуют требованиям испытания на стерильность.

Вторая серия опытов предусматривала контроль качества разработанных диагностических дисков с цефкинома сульфатом по 12 показателям. Изучали в 4 повторностях ($n = 80$), в течении трех лет физико-химические и биологические показатели дисков с цефкинома сульфатом. Хранили их при этом в сухом, темном месте, при температуре от 15 до 25 °С. Установили, что по истечении 2 лет отклонения не превысили установленных в таблице с показателями качества. К 36 мес хранения количество антибиотика уменьшилось на $28,2 \pm 4,2$ %. Срок хранения разработанных дисков установили в 24 мес.

Изучая чувствительность к антимикробным средствам изолятов *E. coli* от больных животных, в том числе в сравнении с *E. coli* ATCC 25922, методом серийных разведений на бульоне установили, что минимальная подавляющая концентрация для цефкинома сульфата составила 0,06, 0,12 и 0,25 мг/л для изолятов относящихся к штамму K99 и 0,12 мг/л для контрольного штамма *E. coli*., соответствует МУК 4.2.1890-04, 2004, с. 89.

Во второй части работы, раствор цефкинома сульфат димексиде и этаноле составил от 0,1 до 50 мкг на один диск. Размер дисков 6 мм, плотность бумаги 300 г на 1 м². Сушка 24 ч при 24 °С. Упаковка в ламинарном боксе.

В третьей части работы, диско-диффузионным методом по «Определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (2021) определяли зоны подавления роста изолятов *E. coli* на агаре в зависимости от содержания цефкинома в диске (таблица 2).

Таблица 2 – Значения МПК и диаметры зон подавления роста (в мм) изолятов *E. coli* в зависимости от содержания цефкинома в диске

Культура	МПК в МПБ мг/л	Содержание цефкинома в диске (мкг)									
		0,1	0,2	0,4	1	5	10	20	30	40	50
		Диаметры зон подавления роста (мм)									
<i>E. coli</i>	0,06	11	15	17	18	19	24	28	31	32	32
<i>E. coli</i>	0,12	8	12	16	17	18	20	26	30	31	31
<i>E. coli</i>	0,25	6	8	12	14	16	19	24	30	30	30
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,12	9	11	15	18	20	22	24	32	31	32

Стандартный инокулюм плотностью 0,5 по стандарту МакФарланда и содержал $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл (МУК 4.2.1890-04, 2004). На основании полученных результатов исследований предложены диагностические диски, содержащие 30 мкг цефкинома сульфата. Во второй серии опытов изготовили диски с цефтиофура гидрохлоридом. В первой части работы определяли чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Использовали изоляты *E. coli* от больных животных, с подтвержденным диагнозом, и контрольный штамм указанные в предыдущей серии опытов. Для цефтиофура гидрохлорида МПК составила 0,03, 0,06 и 0,12 мг/л для изолятов относящихся к штамму K99 и 0,06 мг/л для *E. coli* ATCC 25922. Во вто-

рой части работы установили, что зоны подавления роста *E. coli* на агаре увеличивались до содержания цефтиофура в диске 30 мкг. Затем оставались на неизменном уровне. Допустимыми значениями являются зоны от 20 до 32 мм, соответствующие содержаниям цефтиофура в диске от 20 до 40 мкг. Из чего следует, что содержание цефтиофура в диске должно быть 30 мкг, а целевым показателем задержки роста – 30 мм. Предложены рекомендуемые показатели чувствительности изолятов *E. coli* к цефтиофура гидрохлориду, которыми являются зоны задержки роста на агаре от 20 до 32 мм. Это согласуется с рекомендуемыми МУК 4.2.1890-04 (2004, с. 89) допустимыми диапазонами диаметров зон подавления роста контрольных штаммов *E. coli* для антибиотиков цефалоспоринового ряда. На основе экспериментальных данных предложены диагностические диски, содержащие 30 мкг цефтиофура гидрохлорида, для определения чувствительности возбудителя эшерихиоза животных методом диффузии в агар.

3.3 Изучение чувствительности *E. coli* к антибактериальным средствам

Изучили чувствительность *E. coli* K99, выделенного от больных эшерихиозом телят. Работы проводили в шести сериях опытов по 4 изолята в каждом. В качестве контрольного штамма использовали *E. coli* ATCC 25922. Измеряли диаметр зон задержки роста микробов, включая диаметр дисков. Критерием чувствительности считали диаметр на агаре от 15 до 25 мм. Более поздние рекомендации (МУК 4.2.1890-04) предусматривают нижнее значение диаметра задержки более 15 мм. В среднем (для первых и последних поколений цефалоспоринов, соответственно), по приведенными в МУК 4.2.1890-04 (2004, с. 71), по «Критериям интерпретации результатов определения чувствительности для микроорганизмов относящихся к Enterobacteriaceae»: значения диаметров зон подавления роста более 16 мм и МПК менее 1–16 мг/л – считаются чувствительными. Результаты изучения чувствительности выделенных штаммов представлены в таблице 3.

Для контрольного штамма *E. coli* ATCC 25922 наибольшие зоны задержки роста микроорганизмов были у ципрофлоксацина и левофлоксацина. У выделенных изолятов возбудителя эшерихиоза у телят наибольшая чувствительность установлена к окситетрациклина гидрохлориду, энрофлоксацину, цефтиофура гидрохлориду и цефкинома сульфату.

3.4 Определение вирулентности *E. coli* K99

Как обитатель кишечника животных *E. coli* обладает различными патогенностью и вирулентностью, от ее отсутствия до достаточно высокой, присущей энтеропатогенным и энтеротоксигенным штаммам. В работах ряда отечественных и зарубежных авторов уровень вирулентности для условно-патогенных бактерий, возбудителей энтеритов у животных и в частности кишечной палочки, колеблется в широких пределах: от 300–800 млн до $4,5 \times 10^9$ микробов [Терехов В. И., 2000; He X. et. al., 2012; Борзилов А. И. и др., 2021].

Таблица 3 – Чувствительность эшерихий к антибактериальным средствам (n = 30)

Лекарственные средства	Зоны задержки роста микроорганизмов, мм			Показатель для Enterobacteriaceae, для чувствительных культур** мм
	<i>E. coli</i> K99	<i>E. coli</i> ATCC 25922		
	опыт	контроль	допустимые значения***	
Ампициллин	16,6 ± 2,2	18–20	16–22	≥ 17
Гентамицин	13,4 ± 1,5	22–24	19–26	15–25*
Доксициклин	16,2 ± 1,9	20–24	18–24	≥ 16
Левифлоксацин	17,6 ± 1,3	30–35	29–37	≥ 17
Линкомицин	10,0 ± 0,5	18–20	–	≥ 20
Окситетрациклин	22,9 ± 0,8 ¹	20–24	18–25	≥ 19
Тилозин	16,5 ± 2,0	18–22	–	15–25*
Энрофлоксацин	22,6 ± 1,8	24–28	–	≥ 20
Флорфеникол	20,4 ± 1,4	21–24	–	15–25*
Цефкинома сульфат	24,9 ± 0,9 ¹	30–32	–	20–30
Цефтиофура гидрохлорид	25,7 ± 1,0 ¹	29–32	–	20–30
Ципрофлоксацин	21,6 ± 1,3	32–38	30–40	≥ 21

Примечание: ¹ – P < 0,05; * – Методические указания (1971, 1986), ** – МУК 4.2.1890-04 (2004), с. 71–72 и *** – с. 89–90; «–» – показатели не установлены.

В трех сериях опытов (n = 30) по определению вирулентности эшерихий, использовали выделенные от телят штаммы, относящиеся к типу K99. Количество микробных тел устанавливали по стандарту мутности по Мак Фарланду. Исходная культура содержала 10×10^9 микробных клеток. Изготавливали 10 разведений – от 1:10 до 1:0. Для опытов использовали белых мышей массой 18–20 г, парных аналогов. Культуру вводили интраперитонеально в дозе 50 мкл, однократно. Гибель основного числа мышей происходила на 1–2 день после введения культуры. Клинические признаки и патологоанатомические изменения соответствовали типичной картине, присущей больным эшерихиозом животным. Минимальную летальную дозу MLD₅₀ рассчитали по методу Спирмена-Кербера [Hamilton et. al., 1977], она составила $6,5 \times 10^8$ микробных клеток. Выделенные нами от больных телят штаммы *E. coli* K99 являются патогенными, их вирулентность характеризуется минимальной летальной дозой, которая составляет $6,5 \times 10^8$ микробных клеток для мышей при интраперитонеальном заражении.

3.5 Разработка и изучение контаминации кишечной палочкой средств для лечения эшерихиоза у телят

Разработали лекарственные формы цефтиофура гидрохлорида и цефкинома сульфата, а так же эмульсию ретинола пальмитата в пропиленгликоле. Препарат цефтиофура гидрохлорида представляет собой его раствор в пропиленгликоле, цефкинома сульфата – суспензию в пропиленгликоле дикапрате/каприлате, а ретинола пальмитата эмульсию в пропиленгликоле. Изготавливали массо-объемным методом, объем доводи-

ли при перемешивании при температуре 105 °С. Готовые препараты тестировали по утвержденной на предприятии программе. Учитывая риск инфицирования телят при использовании как инъекционных, так и внутренних препаратов изучили их стерильность, для первых и микробиологическую чистоту, для вторых. Стерильность раствора цефтиофура гидрохлорида определяли методом мембранной фильтрации, а препаратов, не растворяющихся в воде, цефкинома сульфата и ретинола пальмитата, методом прямого посева. Предварительно определяли ростовые свойства питательных сред, используя тест-штаммы *Bac. subtilis* В-4537, *E. coli* ATCC 25922 и *Sac. cerevisiae* Y-3251. Для мембранной фильтрации использовали вакуумную установку, мембраны 47 мм с порами 0,45 мкм. Антимикробное действие цефалоспоринов инактивировали внесением 1 единицы активности фермента β-лактамазы (широкого спектра действия SR0113, представляющую собой смесь бета-лактамаз (E.C.3.5.2.6.) из *Bac. cereus* 569 / Н9) в разбавитель на 1 моль субстрата. Микробиологическую чистоту определяли качественным методом 3- 2-1. фармакопеи Евро-Азиатского содружества. После инкубации на плотных питательных средах предназначенных для идентификации энтеробактерий (№ 4, Эндо) не были обнаружены малиновые или розовые колонии с металлическим блеском, окруженные зонами малинового цвета, типичные для кишечной палочки колонии. По показателю микробиологическая чистота установлено отсутствие *E. coli* в 1 г (мл) в препарате ретивет. Использование лекарственных средств ослабленным животным, в том числе с пониженной иммунобиологической резистентностью при эшерихиозе у телят, следуя риск-ориентированному подходу оценки целесообразности применения препаратов для животных по ГОСТ Р «Нежелательные явления при применении лекарственных средств для ветеринарного применения», подразумевает отсутствие их экзогенной контаминации. Установлена стерильность для препаратов цефанекс 100 и цефкином, а также микробиологическая чистота, в том числе отсутствие кишечной палочки в препарате ретивет.

3.6 Моделирование и лечение эшерихиоза мышей

Работа состояла из трех этапов. На первом, моделировали дисбактериоз у 36 мышей. Их разделили на три одинаковых группы. По методике И. А. Гладько с соавт. (1983), описанной В. Г. Лиходедом (2007) дисбактериоз вызывали путем интрагастрального введения ампиокса при помощи канюли в дозе 4 мг/сутки в течение 5 сут. На втором, на фоне дисбактериоза, мышей заразили ранее выделенными от больных телят культурами кишечной палочки. Клинические проявления у мышей во всех группах включали угнетение и потерю активности в течении суток после заражения. В первой опытной группе мышам вводили препарат цефанекс 100 (раствор цефтиофура гидрохлорида 100 мг/мл) в дозе 1 мг/кг подкожно один раз в день, во второй опытной группе введение антибиотика дополнили внутренним применением препарата ретивет в дозе 1 г/кг массы, соответствующей 20 мг на мыш, содержащей 20 мг пропиленгликоля и 2 МЕ ретинола

пальмитата, получаемой разбавлением препарата 1 к 5 и вводимой в дозе 0,1 мл. Цефанекс 100 непосредственно перед введением мышам разбавляли водой для инъекций в соотношении 1:500, для получения разовой дозы в 0,1 мл, содержащей 20 мкг действующего вещества; в третьей группе – контрольной, лечение не осуществляли. Результаты лечения мышей схемами, приведенными в материалах и методах отражены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты лечения эшерихиоза мышей ($M \pm m$; $n = 36$)

Показатель	Группа		
	опыт 1	опыт 2	контроль
Количество, мышей,	12	12	12
из них, исходы болезни:			
– выздоровело	10	12	6
– пало	1	-	4
– перешла в хроническую форму	1	-	2
Срок выздоровления, дни	$5,2 \pm 0,1$	$4,2 \pm 0,1$	$8,1 \pm 0,2$
Эффективность, %	83,3	100	50 Самовыздоровление

В группе с дополнительной патогенетической терапией с энергетиком и витамином А выздоровление наступало на 4-й день. В группе с монотерапией цефтиофуrom – на 5-й, при этом погибла одна мышшь и у одной болезнь перешла в хроническую форму по состоянию на 14-й день эксперимента.

Переболевание мышей экспериментальным эшерихиозом, без лечения, окончилось самовыздоровлением у половины животных. Применение цефанекса в сочетании с ретиветом позволило сократить срок клинического выздоровления на 1 день, вместе с тем основная часть показателей крови животных опытных групп не имела статистически достоверных отличий. В крови мышей второй опытной группы было большее количество гемоглобина, гамма-глобулина и витамина А при исходе болезни.

3.7 Лечение и профилактика эшерихиоза телят

При постановке диагноза, дополнительно к клиническим и микробиологическим исследованиям определяли количество глюкозы, витамина А и кетоновых тел в крови у телят (по Васильевой Е. А., 1982, телят с диарейным синдромом повышено их количество), высокопродуктивные матери с признаками кетоза в послеродовом анамнезе [Требухов А. В., 2017].

Серии опытов разделили на рекогносцировочную (первую), когда схему лечения телят использовали впервые, и опытно-производственные (вторую и последующие), когда изготовленные нами в лицензированных условиях антибиотики цефалоспоринового ряда реализовывали в хозяйствах и применяли там на постоянно, более года. В первой серии опытов составили четыре группы по шесть телят 2–3-недельного возраста, по принципу пар-аналогов. Схемы лечения приведены в разделе материалы и методы.

В опытных группах (третьей и четвертой) в качестве средства этиотропной терапии использовали цефанекс 100, в дозе 1 мг на 1 кг соответствующей 0,1 мл на 10 кг массы животных, раз в сутки, 5 дней или цефки-

ном 45 в дозе соответствующей 2 мг цефкинома на 1 кг массы животных. Выздоровление устанавливали на основании клинических признаков и прекращения выделения возбудителя с фекалиями. В первой и второй группах (контроль), где применяли окситетрациклин и энрофлоксацин сроки излечения в среднем были на 1–2 дня более длительными, чем в группах с применением цефалоспоринов, соответственно составили $5,1 \pm 1,2$, $4,6 \pm 0,3$ и $3,8 \pm 0,1$, $2,9 \pm 0,2$ дней в группах 3 и 4 (цефтиофура и цефкинома). Средняя масса животных до начала опыта во всех группах почти не отличалась, составляя от $46,8 \pm 2,6$ в группе с применением цефкинома до $48,1 \pm 2,2$ для цефтиофура. К окончанию опыта масса болевших животных была меньше здоровых в среднем на 3,5 кг (от 2,9 до 4,1 кг), что составило 6,7 % потерь прироста живой массы животных за 10-дневный срок наблюдений. Сравнивая показатели среднесуточного прироста массы с интактными животными (531 г в сутки) и группой энрофлоксацина, принятую за позитивный контроль при лечении эшерихиоза телят (352 г в сутки), для опытных третьей и четвертой групп этот показатель был хуже в сравнении с не болевшими, но лучше чем контрольными, соответственно (441 г в сутки) в группе, где применяли цефтиофура и (460 г в сутки) в группе, где применяли цефкином (таблица 5).

Рассматривая изменения морфологических показателей крови, в части количества эритроцитов, существенных отличий (за рамки референсных значений) при контролируемом течении эшерихиоза не наблюдалось. Вместе с тем если на начало болезни их число в среднем было $6,52 \pm 0,31$, то к ее окончанию в третьей группе $6,70 \pm 0,34$, а в четвертой – $6,87 \pm 0,38 \times 10^{12}/л$, т. е. на 2,7 и 5,1 % больше, соответственно. Изменения количества лейкоцитов стремились обратно пропорционально, от $9,6 \pm 0,15$ до $8,50 \pm 0,70 \times 10^9/л$ в первой контрольной группе, где применяли окситетрациклин.

Таблица 5 –Срок выздоровления и прирост массы телят при лечении эшерихиоза ($M \pm m$; $n = 48$)

Группа животных	Клиническое выздоровление, день	Средняя масса одной головы, кг		Средний суточный прирост, г	± к контролю (группа 2), г	Прирост массы, %
		на начало опыта	на конец опыта (10-й день)			
1. Окситетрациклин 20 %	$5,1 \pm 1,2$	$47,1 \pm 2,2$	$50,2 \pm 2,8$	320	– 32	– 10
2. Энрофлоксацин 5 %	$4,6 \pm 0,3$	$46,9 \pm 2,3$	$50,4 \pm 2,7^*$	352	–	–
3. Цефанекс 100	$3,8 \pm 0,1$	$48,1 \pm 2,2$	$52,0 \pm 2,4$	441	+ 89	+ 125
4. Цефкином 45	$2,9 \pm 0,2$	$46,8 \pm 2,6$	$50,6 \pm 2,5^*$	460	+ 108	+ 130
5. Не болевшие	–	$47,8 \pm 2,4$	$53,1 \pm 2,6$	531	+ 179	+ 150

Примечание: * – $P < 0,05$.

Содержание кетоновых тел на начало болезни было повышено ($1,2 \pm 0,58$ ммоль/л) на фоне недостатка глюкозы и витамина А. Использование в схеме лечения ретивета нормализовало количество кетоновых тел до пороговых значений и способствовало увеличению количества глюкозы с нижних границ нормы на начало болезни с $2,26 \pm 0,19$ до $2,85 \pm 0,11$ ммоль/л в группе, где применяли ретивет. Увеличение связано с тем, что пропиленгликоль является некетогенным источником энергии. Количество витамина А (таблица 6) в опытах увеличилось с $0,31 \pm 0,011$ до $0,43 \pm 0,015 - 0,53 \pm 0,019$ мкмоль/л, т. е. было выше и в первой и во второй (контрольных группах), вместе с тем наибольшее увеличение его количества в крови у телят было в опытных третьей и четвертой до $0,74 \pm 0,016$ и $0,85 \pm 0,017$ мкмоль/л соответственно.

Таблица 6 – Показатели крови у телят при эшерихиозе ($M \pm m$; $n = 48$)

Показатель	Группа					Интервал
	начало болезни	1 контроль	2 контроль	3 опыт	4 опыт	
γ-глобулины, %	25,1±0,58	25,61±1,30	27,12±1,33	28,64±1,43	29,92±2,39	25–40**
Фагоцитарное число, ед.	4,7±0,12	6,67±0,31	6,83±0,34	7,03±0,34	6,90±0,33	
Фагоцитарная активность лейкоцитов, %	37,0±0,58	39,9±3,08	40,1±2,09	40,6±2,28	40,9±4,05	
Витамин А, мкмоль/л	0,31±0,011	0,53±0,019	0,43±0,015	0,85±0,017	0,74±0,016	От 0,35–1,05 ** до 1,4–5,2 мкмоль/л) ****
Глюкоза, ммоль/л	2,26±0,19	2,63±0,12	2,48±0,11	2,84±0,11	2,55±0,11	2,5–3,88**
Сумма кетоновых тел, ммоль/л	1,2±0,58	1,05±0,2	0,80±0,3	1,03±0,05	0,95±0,1	Менее 1 ***
Примечание: ¹ – $P < 0,05$; ** – по С. В. Васильевой (2017, с. 41), *** – по Н. В. Головой и др. (2017), **** – по С. А. Утц (2020, с. 12).						

Таким образом, среднее по всем группам, где лечили эшерихиоз его увеличение было от 37 до 82 %, до уровня первой трети диапазона физиологической нормы. Наиболее существенные изменения наблюдались в динамике фагоцитарной активности лейкоцитов, которая увеличилась на 3 % в сравнении четвертой группы, где применяли цефкином, соответственно, с $37,0 \pm 0,58$ % на начало болезни до $40,9 \pm 4,05$ % к ее окончанию. Подобное направление изменений наблюдали и для фагоцитарного числа, увеличивавшегося с $4,7 \pm 0,12$ до $7,03 \pm 0,34$ ед. в группе с цефтиофуrom. Из чего следует сделать вывод, что применение цефалоспориновых антибиотиков цефтиофура и цефкинома при эшерихиозе не угнетало клеточное звено иммунитета у телят и способствовало увеличению фагоцитарного числа на 46–

49 %. Количество γ -глобулинов больше в 3 и 4 опытных группах на 11,8–16,7 % больше, чем в первой опытной группе.

Использование цефалоспоринов третьего и четвертого поколений (в сравнении с фторхинолоновым и препаратом тетрациклиновой группы), в том числе в комплексе с препаратом ретинола пальмитата в пропиленгликоле сократило срок клинического выздоровления телят при эшерихиозе на 1–2 дня, уменьшив при этом потери прироста массы в среднем на 42,5 %.

Серии опытов по производственной оценке эффективности разработанной схемы лечебно-профилактических мероприятий при эшерихиозе проводили в хозяйствах Южного федерального округа в 2015–2023 гг. на телятах 5–20-дневного возраста. Для этого были сформированы по методу параналогов три группы животных, по 24 в каждой, с признаками диареи. Проводили ИФА (Monoscreen AbELISA E.coli F5 (K99)) и иммунохроматографическое экспресс-тестирование (Fassisi BoDia) крови и фекалий на наличие антител или антигенов к *E. coli* K99. Установили, что возбудитель болезни в 58 % случаев *E. coli* K99. В первой опытной группе телятам вводили препарат цефанекс 100 в дозе 1 мг/кг цефтиофура гидрохлорида один раз в день, во второй опытной группе введение антибиотика дополнили внутренним применением препарата ретивет в дозе 1 г/кг массы. В третьей использовали цефкином 45. В результате лечения в контрольной и второй опытной группе выздоровели все животные на $3,7 \pm 0,18$ и $3,5 \pm 0,15$ дни соответственно. В первой группе пало 2 теленка (таблица 7). Терапевтическая эффективность применения цефтиофура и цефкинома составили от 91,6 до 100 %.

Таблица 7 – Результаты лечения эшерихиоза телят ($M \pm m$; $n = 72$)

Показатель	Группа		
	опыт 1	опыт 2	контроль
Количество, телят,	24	24	24
из них: выздоровело	22	24	24
пало	2	-	-
Срок выздоровления, дни	$4,1 \pm 0,18$	$3,5 \pm 0,15$	$3,7 \pm 0,18$
Терапевтическая эффективность, %	91,6	100	100

Количество витамина А в опытах увеличилось с $0,32 \pm 0,014$ до $0,74 \pm 0,024$ мкмоль/л во второй опытной группе. Изменения наблюдались в фагоцитарной активности лейкоцитов, которая увеличилась на 2,6 % во второй группе. Аналогичные изменения наблюдали и при подсчете фагоцитарного числа, увеличившегося с $3,61 \pm 0,34$ до $5,61 \pm 0,20$ в группе с цефтиофуrom и ретиветом. Из чего следует сделать вывод, что применение цефалоспориновых антибиотиков цефтиофура и цефкинома при эшерихиозе не угнетало клеточное звено иммунитета у телят, а в сочетании с источником углеводов и витамином А способствовало увеличению фагоцитарного числа на 55 %.

Установлено, что течение патологического процесса и исход болезни в существенной мере зависит от неспецифической резистентности телят. При антибиотикотерапии в сочетании использованием безуглеводистых источников энергии с витамином А телята выздоравливали на 1–2 дня быстрее.

При профилактике эшерихиоза, отдавая главную роль использованию средств специфической иммунопрофилактики, вакцинам и гипериммунным сывороткам. В части усовершенствования профилактики эшерихиоза при назначении антимикробных препаратов, предлагается исключить из применения в профилактических целях средства, применяемые в лечебных целях. В качестве целевого списка использовать средства включенные в перечень, обращение которых ограничено. При назначении антимикробных средств для лечения телят больных эшерихиозом выписывать рецепты или требования на отпуск. Вести журналы учета рецептов или требований. Это позволит уменьшить формирование антибиотикорезистентных эшерихий.

Окупаемость разработанной схемы составила 16,7 руб. с использованием цефалоспорины 3 поколения цефанекс 100 в сочетании с ретиветом и 17,3 руб. на один рубль затрат с использованием цефалоспорины 4 поколения, цефкинома 45 при лечении эшерихиоза телят.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выводы

1. Эшерихиоз телят относится к III группе инфекций с широкой распространенностью в промышленном животноводстве. По степени опасности характеризуется умеренной патогенностью. С 2015 по 2023 гг. в Краснодарском крае заболело 359 животных – от 0,38 до 9,03, в среднем 5,1 % от общей цифры всех случаев инфекционных болезней у крупного рогатого скота. Популяцией риска являются телята 3–14-дневного возраста. Время риска от рождения до 10-дневного возраста. Территория риска животноводческие фермы. Средний коэффициент заболеваемости телят эшерихиозом в Краснодарском крае составил 0,0002.

2. Территориально, болезнь регистрировали в Белоглинском, Калининском, Курганинском, Лабинском, Приморско-Ахтарском, Северском, Староминском, Тимашевском, Тбилисском районах Краснодарского края, во всех территориально-климатических зонах, за исключением южной (курортной).

3. От больных телят выделены патогенные штаммы *E. coli* K99 их вирулентность MLD₅₀ для мышей при интраперитонеальном заражении составляет $6,5 \times 10^8$ микробных клеток. Установлена высокая чувствительность выделенных изолятов к окситетрациклина гидрохлориду, энрофлоксацину, цефтиофура гидрохлориду и цефкинома сульфату.

4. Для изолятов *E. coli* K99 и *E. coli* ATCC 25922 определены МПК цефтиофура гидрохлорида 0,03–0,12 мг/л и цефкинома сульфата, составившая 0,06–0,25 мг/л. Разработаны диски с цефтиофуром и цефкиномом, показатели их активности и качества, определена чувствительность, составившая от 20 до 30 мм зоны задержки роста тестовых и полевых возбудителей эшерихиоза у телят методом диффузии в агар. Изучена контаминация кишечной палочкой разработанных средств для профилактики и лечения эшерихиоза у телят. Установлен срок их годности 2 года.

5. На модели экспериментального эшерихиоза у мышей установлено, что использование пропиленгликоля и ретинола пальмитата способствовало

повышению количества глюкозы и витамина А в сыворотке крови у мышей на 25,7 и 82 %, а также увеличению фагоцитарной активности лейкоцитов и фагоцитарного числа – на 49 и 80 % в сравнении с отрицательным контролем. В сочетании с антибиотикотерапией это обеспечивало повышение сохранности и уменьшению срока лечения мышей при экспериментальном эшерихиозе.

6. Предложена антимикробная терапия эшерихиоза телят с использованием цефалоспоринов третьего и четвертого поколений (в сравнении с фторхинолоновым и препаратом тетрациклиновой группы), в том числе в комплексе с препаратом ретинола пальмитата в пропиленгликоле, обеспечивающая повышение в крови у телят количества γ -глобулинов на 19,2 %, глюкозы – на 26,1 %, витамина А – в 2,74 раза, фагоцитарной активности лейкоцитов – на 10,5 % и фагоцитарного числа – на 46,8 %, уменьшение при этом потерь прироста массы в среднем на 25–30 %.

7. Лечебно-профилактические мероприятия, основанные на ранней диагностике с использованием иммунохроматографических и ИФА экспрессных тест систем при раннем начале лечения эшерихиоза повышали в крови у телят количества витамина А в 2,3 раза, глюкозы – на 40 % и γ -глобулинов – на 13 %, что ускорило клиническое выздоровление телят на 1–2 дня. Экономическая эффективность составила от 16,7 до 17,3 руб. на 1 руб. затрат.

Предложения производству

1. Ветеринарным микробиологическим лабораториям предлагаются диагностические диски с цефтиофура гидрохлоридом и цефкинома сульфатом для определения чувствительности к ним микроорганизмов, включая кишечную палочку, выделенную от больных телят, методом диффузии в агар.

2. Мониторинг, профилактика на основе ранней диагностики эшерихиоза с использованием иммунохроматографических экспресс-тестов.

3. Схема лечения при эшерихиозе телят, включающая антибиотикотерапию с использованием цефтиофура гидрохлорида или цефкинома сульфата и повышение естественной резистентности ретинола пальмитатом и пропиленгликолем.

Предложены «Рекомендации по лечению эшерихиоза телят», утвержденные наблюдательным советом АНО «Ветеринарная фармацевтика» (протоколы № 3 от 28 11 2022 года и № 2 от 20 02 2023 года), предложены методические рекомендации «Иммунологические методы исследования в ветеринарии» (рассмотрены и одобрены ученым советом ФГБНУ КНЦЗВ 17.10.2023 г., протокол № 8).

Перспективы дальнейшей разработки темы

В перспективе планируется продолжение исследований по применению разработанных средств диагностики чувствительности микроорганизмов к цефтиофура гидрохлориду и цефкинома сульфату, а также схем их использования при других бактериальных инфекциях.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Кощаев, А. Г. Моделирование и лечение экспериментального эшерихиоза мышей / А. Г. Кощаев, Н. Н. Гугушвили, **А. А. Трошин** // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. – № 99 – С. 241–249.
2. Кощаев, А. Г. Диагностика и лечение эшерихиоза телят / А. Г. Кощаев, Н. Н. Гугушвили, **А. А. Трошин** // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2022. – №. 100 – С. 223–230.
3. Кощаев, А. Г. Усовершенствование лечения эшерихиоза телят цефалоспорином IV поколения / А. Г. Кощаев, Н. Н. Гугушвили, **А. А. Трошин** // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2023. – № 8. – С. 57–65.
4. Трошин, А. А. Эпизоотология и лечение эшерихиоза телят в Краснодарском крае / **А. А. Трошин** // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины. – 2023. – № 234 с 83–87.

Монографии, рекомендации

5. Трошин, А. Н. Рациональное применение ветеринарных препаратов / А. Н. Трошин, **А. А. Трошин**. – Тимашевск, 2019. – 48 с.
6. Трошин, А. А. Лечение и профилактика эшерихиоза телят: монография / **А. А. Трошин**. – Текст : электронный. – Тимашевск : АНО «Ветфармацевика», 2022. – 88 с. – URL : <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=49699129>.
7. Гистохимия иммунокомпетентных органов: методические рекомендации / А. Г. Кощаев, В. М. Гугушвили, Н. Н. Гугушвили, Т. А. Инюкина, Е. А. Горпинченко, **А. А. Трошин** [и др.]. – Краснодар : КубГАУ, 2023. – 47 с.
8. Иммунологические методы исследования в ветеринарии: методические рекомендации / А. Г. Кощаев, В. М. Гугушвили, Н. Н. Гугушвили, Т. А. Инюкина, **А. А. Трошин** [и др.]. – Краснодар : КубГАУ, 2023. – 49 с.

Статьи в других изданиях

9. Показатели иммунитета при эшерихиозе телят / Н. Н. Гугушвили, А. Г. Кощаев, **А. А. Трошин** [и др.] // Институциональные преобразования АПК России в условиях глобальных вызовов : сборник тезисов по материалам V Международной конференции. – Краснодар, 2020. – С. 20.
10. Трошин, А. А. Разработка препарата цефанекс для лечения эшерихиоза телят / **А. А. Трошин** // Современные технологии : проблемы инновационного развития и внедрения результатов : материалы IV Международной научно-практической конференции. – Петрозаводск, 2020. – С. 134–137.
11. Трошин, А. А. Актуальность разработки антимикробных средств для лечения эшерихиоза телят / **А. А. Трошин** // Science and technology innovations : материалы III Международной научно-практической конференции. – Петрозаводск, 2020. – С. 183–185.
12. Трошин, А. А. Разработка дисков и определение чувствительности E. coli к цефкиному / **А. А. Трошин** // Наукосфера. – 2022. – № 6-1. – С. 71–74.
13. Трошин, А. А. Показатели качества дисков с цефтиофуrom для определения чувствительности E. coli, выделенной от телят / **А. А. Трошин**, Н. Н. Гугушвили, А. Н. Трошин // Актуальные проблемы аграрной науки: прикладные и исследовательские аспекты: материалы III Всероссийской (национальной) научно-практической конференции. Часть 2. Нальчик : ФГБОУ ВО Кабардино-Балкарский ГАУ, 2023. – С. 125–128.
14. Трошин, А. А. Изучение чувствительности E. coli к антибактериальным средствам / **А. А. Трошин** // Пути повышения результативности современных научных исследований: материалы Международной научно-практической конференции. – Sterlitamak : АМИ, 2023. – С. 9–12.

15. Трошин, А. А. Мониторинг эшерихиоза в инфекционной патологии крупного рогатого скота в Краснодарском крае / **А. А. Трошин**, Н. Н. Гугушвили, А. Н. Трошин // Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных : материалы Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, с международным участием. – Великие Луки, 2023. – С. 212–219.

16. Трошин, А. А. Изучение стерильности и микробиологической чистоты лекарственных препаратов для лечения телят при эшерихиозе / **А. А. Трошин**, Н. Н. Гугушвили, А. Н. Трошин // Актуальные проблемы диагностики, лечения и профилактики болезней животных: материалы Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, с международным участием. – Великие Луки, 2024. – С. 158–163.

ТРОШИН Алексей Андреевич

ЭПИЗООТОЛОГИЯ, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА ЭШЕРИХИОЗА ТЕЛЯТ В КРАСНОДАРСКОМ КРАЕ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Подписано в печать 2024 г. Усл. п. л. – 1.
Тираж 100 экз. Заказ №
Типография Кубанского государственного аграрного университета.
350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13