



Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8714
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 636.09.576:619.48:636.5

Influence of disinfectant «Bi-des» on the sporulation on eimeria oocyst of chicken

M.V. Golubtsova, V.V. Stybel, A.G. Sobolta

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 06.02.2018
Received in revised form
23.03.2018
Accepted 26.03.2018

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-097-898-84-28
E-mail: marjasha1984@gmail.com

Golubtsova, M.V., Stybel, V.V., & Sobolta, A.G. (2018). Influence of disinfectant «Bi-des» on the sporulation on eimeria oocyst of chicken. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(87), 70–73. doi: 10.15421/nvlvet8714

Eymeriosis (coccidiosis) is a protozoal disease of a poultry characterized by inhibition, loss of appetite, thirst, diarrhea, often with blood, anemia, nervous phenomena. Diseases are registered in the world everywhere, including in Ukraine. Regardless of its type eymeriosis is one of the most serious technological diseases of farm birds in developed countries. Sick animals excreted with oocysts, which are the source of invasion, and contaminated by them feed, water, litter, equipment of livestock buildings, objects of care, etc. are the factors of transmission. Infection with coccidia occurs in an elementary way by swallowing an oocyst with water or food. The results of the study of the des-invasive effect of the Bi-des preparation on oocysts of chicken eimeria are presented. In the formulation of the proposed disinfectant, as ADR included: PGMG-hydrochloride and triamine and auxiliaries substances – cocamidopropyl-betaine and glutamic acid as well. Due to which this pharmaceutical combination has a cleansing effect. Researches of the effect of the «Bi-des» preparation on the process of sporulation of the oocyst *E. tenella* was carried out at concentrations of 1, 2 and 3% with exposition of one, two, three and four hours. It was found that the preparation of 1% concentration with exposition of three and four hours caused the death of almost half of the oocyst eimeria (44.98 and 47.9%). Sufficiently high oocystocidal effect (62.7–79.9%) were found at 2% disinfectant concentration with different exposition regimes. 3 hours exposition caused 100% lysis oocyst eimeria of chicken. It was established that using the preparation caused visible destructive changes of morphology of the simplest and led to the static effect on the sporulation of the oocyst.

Key words: eimeria, oocysts chicken, des-invasive, preparation Bi-des.

Вплив дезінфектанту «Бі-дес» на споруляцію ооцист еймерій у курей

М.В. Голубцова, В.В. Стибель, А.Г. Соболта

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького,
м. Львів, Україна

Еймеріоз (кокцидіоз) – протозойне захворювання птиці, яке характеризується пригніченням, втратою апетиту, спрагою, проносами, нерідко з домішками крові, анемією, нервовими явищами. Захворювання реєструють в світі повсюдно, в тому числі – в Україні. Еймеріоз є одним з найтяжчих технологічних захворювань сільськогосподарської птиці, незалежно від її виду в країнах з розвиненим птахівництвом. Хворі тварини виділяють з екскрементами ооцисти, які є джерелом інвазії, а чинниками передачі виступають забруднені ними корми, вода, підстилка, обладнання тваринницьких приміщень, предмети догляду тощо. Зараження коцидіями відбувається аліментарним шляхом внаслідок ковтання ооцист з водою чи кормом. Правильне застосування сучасних дезінфікуючих препаратів може забезпечувати якісну дезінфекцію птахівницьких об'єктів і знижувати ризик виникнення резистентності у найпростіших до біоцидних засобів. швидкості розвитку стійкості мікроорганізмів залежить від: виду дезінфікуючого засобу; концентрації його в робочому розчині; частоти і тривалості використання того чи іншого дезінфектанту. У статті наведені результати дослідження дезінвазійної дії препарату Бі-дес на ооцисти еймерій курей. До складу рецептури запропонованого дезінфектанту, в якості АДР включено: ПГМГ-гідрохлорид і триамін, а також допоміжні речовини – кокамідопропіл-бетайн і глютамінову кислоту, за рахунок яких дана фармацевтична комбінація володіє миючим ефектом. Вивчення дії препарату «Бі-дес» на процес споруляції ооцист *E. tenella* проводили у концентраціях 1, 2 та 3% за експозиції одна, дві, три та чотири години. Встановлено, що препарат в 1% концентрації за експозиції три і чотири години призводив до загибелі майже половини ооцист еймерій (44,98 і 47,9%). Достатньо високу ооцистоцидну дію (62,7–79,9%) виявляли у 2% концентрації дезінфектанту за різних

режимів експозиції. Експозиція 3 години призвела до 100% лізису ооцист еймерій курей. Встановлено, що контакт з досліджуваним препаратом викликав видимі деструктивні зміни у морфології найпростіших та призводив до статичного впливу на споруляцію ооцист

Ключові слова: еймерії, ооцисти, кури, дезінвазія, препарат Бі-дез.

Вступ

Птахівництво є однією з найбільш скоростиглих галузей тваринництва, що забезпечує швидкий оборот вкладених коштів та динамічний її розвиток завдяки диверсифікованому типу виробництва продукції (Berezovskyi et al., 2002; Ievstafieva et al., 2010; Korolenko et al., 2014; Sobolev et al., 2017; Medvid et al., 2017). Перспективи галузі безпосередньо пов'язані з благополучним ветеринарним супроводом, оскільки велика концентрація птахів на обмеженій території птахофабрики – це великий біологічний потенціал, який слід розглядати як сукупний біологічний організм, що потребує постійної уваги до свого здоров'я (Yakubovskiy, 2012).

Серед паразитарних найпростіших найчастіше трапляються кокцидіози, які уражають курчат 10–90-денного віку. Часто перебіг хвороби має ензоотичний характер, викликаючи загибель інколи до 80% сприйнятливої поголів'я, економічні втрати господарників від спалахів зазначеного протозоозу прямим чином залежать від ефективності проведення ними лікувально-профілактичних заходів і полягають у зниженні приростів на 7–10%, погіршенні конверсії корму в середньому на 10–15%, втратах яйця від перехворілої дорослої птиці. За гострого перебігу загибель молодняку в окремих випадках може сягати до 100%, хоча середньостатистичний рівень загибелі від еймеріозу – в межах 20–40% (Pototskiy, 1999; Bohach and Bohach, 2013; Khariv et al., 2017).

Висока життєздатність ооцист найпростіших, а також їх спроможність виживати після контакту з хімічними речовинами у концентраціях та експозиціях, згубних для патогенних мікроорганізмів, є серйозною проблемою. За ступенем стійкості ооцисти еймерій свиней, жуйних і птиці відносять до групи високостійких збудників паразитозів (Rose and Hesketh, 1991; Jeurissen et al., 1996; Halat et al., 2009; Zhang et al., 2012; Zhou et al., 2014).

Вже близько ста років науковці різних країн світу займаються вирішенням проблем дезінвазії – пошуку ефективних методів і засобів знешкодження паразитів та їх зародків у довікллі. З цією метою апробовано величезну кількість різноманітних хімічних речовин. Переважна більшість із них – це агресивні сполуки, токсичні та екологічно небезпечні. Механізм дезінвазійної дії полягає в руйнуванні ними оболонки яєць або ооцист паразитів (Dmitrieva, 2008).

На виробництві застосовують переважно дезінфектанти, які малоефективні проти екзогенних стадій розвитку більшості збудників паразитозів. Натомість при підвищенні їх концентрації та подовженні експозиції іноді можна досягти позитивного ефекту (Svarchevskiy, 2006; Peredera, 2008). Водночас, була і на сьогодні залишається актуальною проблема пошу-

ку дезінвазійних речовин для застосування проти ооцист кокцидій.

Препарат Бі-дез є біоцидом широкого спектру антимікробної активності щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій, вірусів та грибів. До складу рецептури запропонованого дезінфектанта, як АДР включено: ПГМГ-гідрохлорид і триамін, а також допоміжні речовини – кокамідопропіл-бетаїн і глютамінову кислоту, за рахунок яких дана фармацевтична комбінація володіє миючим ефектом. Оброблені поверхні препарат наділяє пролонгованим бактерицидним ефектом (тривалістю до 30 діб). Також препарат має дезінвазійну дію. За ступенем впливу на організм дезінфектант відноситься до малонебезпечних речовин (4-й клас безпеки за ГОСТ12.1.007-76), в рекомендованих концентраціях не чинить подразнюючої та алергічної дії, не токсичний, без гострого запаху, не викликає корозії металевих предметів, не руйнує вироби з гуми, пластмас і тканин (Vyisotskiy and Ivanov, 2005).

Метою роботи є дослідити вплив дезінфектанту «Бі-дез» на споруляцію ооцист еймерій.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження з вивчення дезінвазійних властивостей препарату Бі-дез проводилися згідно з Методичними рекомендаціями (Zavorodniy et al., 2005).

Вивчення впливу дезінфікуючого препарату «Бі-дез» на процес споруляції ооцист *E.tenella* проводили за методикою Fetter R.H. (Fetterer et al., 2010).

Діагноз на еймеріоз встановлювали за результатами лабораторних обстежень посліду курей за методом Фюлленборна. Після накопичення та чотириразового відмивання з флотажного розчину 5 000 ооцист розподіляли рівномірно у 16 лунок культурального планшету. Культивування ооцист здійснювали з додаванням препарату «Бі-дез» у різних концентраціях (1, 2, 3%) та неоднакової експозиції (одна, дві, три та чотири години) за кімнатної температури (20 ± 3 °C). Необроблений контроль (дистильована вода) експонували три години. Після відповідної експозиції культуру ооцист чотириразово відмивали в дистильованій воді. Для подальшої споруляції ооцист отриману суспензію культивували впродовж двох діб у 2,5% розчині калію двохромовокислого, періодично збагачуючи її повітрям кімнатної температури. Кожне інкубування ооцист у відповідних концентраціях та експозиціях проводили з двома повторностями. Після культивування по 100 ооцист з кожної лунки планшету розглядали під мікроскопом ($\times 100$), визначали ступінь їх розвитку або пошкодження, встановлюючи кількість неспорульованих та спорульованих ооцист. Інтенсефективність (ІЕ) дезінфектанту визначали за формулою 2.4:

$$IE = \frac{N_2 - N_1}{N_2} \times 100, \%$$

де, N_1 – кількість споруюваних ооцист у розчині дезінфектанту; N_2 – кількість споруюваних ооцист у контролі.

Отриманий цифровий матеріал оброблений статистично за допомогою комп'ютерної програми MS Excel 2007 з визначенням середньої арифметичної (M), статистичної похибки середньої арифметичної (m). Вірогідність різниці (P) між середніми арифметичними двох варіаційних рядів визначали за критерієм вірогідності і за таблицями Ст'юдента (td). Різницю між двома величинами вважали вірогідною при рівній можливості $P \leq 0,05$.

Таблиця 1

Вплив дезінфектанту Бі-дез на спорогонію *Eimeria tenella* (n = 100)

Концентрація розчину дезінфектанту, %	Кількість споруюваних ооцист на 2-гу добу досліджу				ІЕ препарату, %			
	Експозиція, год				Експозиція, год			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	69,4 ± 3,18**	57,1 ± 4,21***	50,4 ± 3,19***	47,7 ± 4,81***	24,2	37,7	44,98	47,9
2	34,2 ± 2,48***	29,3 ± 2,78***	20,7 ± 2,78***	18,4 ± 1,88***	62,7	68,0	77,4	79,9
3	9,1 ± 1,76***	4,8 ± 1,62***	–	–	90,1	94,8		
Контроль	91,6 ± 4,21							

Примітки: ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

Високих показників (90,1–94,8%) загибелі ооцист еймерій було досягнуто за концентрації препарату 3% та одно-двогодинної експозиції. Також спостерігали припинення процесу споруювання та стискання цитоплазми. Експозиція 3 і 4 год викликає 100% лізіс ооцист еймерій курей.

Дегельмінтизація курей є складовою частиною комплексу протигельмінтозних заходів, а в початковий період оздоровлення господарства від інвазії є однією з основних ланок. В птахівництві найбільш прийнятливою є групова хіміотерапевтична дегельмінтизація. Основними вимогами, які висуваються до антигельмінтних препаратів, є їхня ефективність та безпечність.

Аналіз настанов виробників протипаразитарних препаратів, рекомендацій щодо застосування антигельмінтиків у літературних джерелах свідчить, що дози, зазначені в настановах, не завжди виявляють відповідно високу ефективність при асоціативних та змішаних гельмінтозах (Timohina, 2002; Drevall, 2012).

З антигельмінтиків, що останнім часом застосовуються для лікування хворої на гельмінтози птиці, найбільш поширеними в Україні є препарати: альбендазол, флюбензол, брованол, левамізол, а для лікування протозоозів – ампроліум, бровітакоксид та бровафом (Berezovskyi et al., 2002).

У зв'язку з цим нами була вивчена порівняльна ефективність антигельмінтних препаратів за асоціативних інвазій. Курям, інвазованих аскаридіями і гетеркісами, застосовували препарат бровермектин 2% (івермектин – 20,0 мг), який випоювали з розрахунку 0,4 мл на птицю протягом доби; курям, що були інвазовані еймеріями – бровасептол (сульфадиметоксина

Результати та їх обговорення

Вивчення деінвазійної дії препарату «Бі-Дез» на процес споруювання ооцист *E. tenella* проводили у розведеннях 1, 2 та 3% за експозиції 1, 2, 3 та 4 год (табл. 1).

Концентрація дезінфектанту 1% за експозиції 3–4 год призвела до загибелі майже половини (44,98% і 47,9%) ооцист еймерій.

Достатню високу ооцистцидну дію (62,7–77,4%) виявлено у 2% розчині застосованого дезінфектанту за різних режимів експозиції. Проте за експозиції 3 – 4 години в ооцистах припинявся процес споруювання, але зовнішніх змін у кокцидіях не було виявлено.

натрієва сіль – 300 мг, сульфадіазина натрієва сіль – 300 мг, триметоприм – 120 мг), який випоювали у дозі 1,6 мл на 1,6 л води на групу триразово з інтервалом 24–36 годин та курям, уражених аскаридіозно-гетеракозно-еймеріозною інвазією, – бровадазол (піперазина адипінат – 250 мг, фенбендазол – 30 мг) у дозі 40 г на 800 г комбікорму на групу одноразово.

Експериментальні дослідження вивчення антигельмінтної ефективності вищезазначених препаратів були підтверджені випробуваннями їх на курях, хворих на асоціативні інвазії.

Уже на 24 добу досліджень після застосування бровермектину 2% ЕЕ та ЕІ препарату щодо збудників аскаридіозу та гетеракозу становила 100%.

За еймеріозної інвазії ЕЕ препарату бровасептол на 7 добу експерименту становила 62,5%, а на 14 добу – 100%.

При задаванні бровадазолу курям, інвазованих аскаридіозно-гетеракозно-еймеріозною інвазією найвища ЕЕ бровадазолу (100%) проявилася на аскаридіях і гетеракісах вже на 14 добу досліджень. За еймеріозу ЕЕ становила 65%.

Висновки

1. На ооцисти еймерій препарат виявляв свою дію у концентрації 3% за експозицій одна та дві години.

2. Через 2 години експозиції в ооцистах відбувається зниження споруювання та морфологічні зміни в цитоплазмі ооцист еймерій курей.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним є подальше вивчення впливу препарату Бі-дез як деінвазійного засобу на ембріогенез *Ascaridia galli* і

Heterakis gallinarum, а також для знезараження ґрунту, тваринницьких приміщень, стічних вод тощо.

References

- Berezovskyi, A.V., Soroka, N.M., & Honcharenko, N.V. (2002). Efektyvnist khimioterapevtychnykh preparativ pry poliinvaziiah fazaniv. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*. 11, 15–17 (in Ukrainian).
- Berezovskyi, A.V., Soroka, N.M., & Honcharenko, N.V. (2002). Efektyvnist khimioterapevtychnykh preparativ pry poliinvaziiah fazaniv. *Vet. medytsyna Ukrainy*. 11, 15–17 (in Ukrainian).
- Bohach, M.V., & Bohach, T.V. (2013). Problemni parazytozy produktyvnoi ptytsi, zasoby yikh khimioterapii ta khimioprofilaktyky. *Mizhvidomchyi tematychnyi naukovi zbirnyk «Veterynarna medytsyna» NMTs «IEKVM»*. 97, 374–376 (in Ukrainian).
- Dakhno, S., Nehreba, Yu.V., & Lazarenko, L.M. (2008). Eksperymentalne vyznachennia dezinvaziinykh vlastyvopei preparatu Septador-Forte. *Veterynarna medytsyna*. 91, 179–182 (in Ukrainian).
- Dmitrieva, E.L. (2008). Izyiskanie sredstv i sposobov dezinvazii ob'ektov okruzhayushey sredyi ot ootsist kriptosporidiy. *Meditinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*. 1, 46–47 (in Russian).
- Dreval, D.V. (2012). Sovremennyye tendentsii v razvitii metodov borbyi s koktsidiazom kur. *Suchasna vet. meditsina*. 1, 26–30 (in Russian).
- Fetterer, R.H., Jenkins, M.C., Miska, K.B., & Cain, G.D. (2010). Metam sodium reduces viability and infectivity of *Eimeria oocysts*. *Journal of Parasitology*. 96(3), 632–637. doi: 10.1645/GE-2345.1
- Halat, V.F., Berezovskyi, A.V., Soroka, N.M., & Prus, M.P. (2009). Parazytolohiia i invaziini khvoroby tvaryn. K.: Urozhai (in Ukrainian).
- Ievstafieva, V.O., Klymenko, O.S., Khyzhnia, L.Yu. (2010). Monitorynh kyshkovykh parazytoziv kurei pryvatnykh gospodarstv Poltavskoi oblasti. *Visnyk Poltavskoi derzhavnoi ahranoi akademii*. 4, 130–131 (in Ukrainian).
- Jeurissen, S.H.M., Janse, E.M., Vermeulen, A.N., & Vervelde, L. (1996). *Eimeria tenella* infections in chickens: aspects of host-parasite: interaction. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 54(1–4), 231–238. doi: 10.1016/S0165-2427(96)05689-9.
- Khariv, I., Gutyj, B., Hunchak, V., Slobodyuk, N., Vynyarska, A., Sobolta, A., Todoriuk, V., & Seniv, R. (2017). The influence of brovitatoxide in conjunction with milk thistle fruits on the immunesystem of turkeys for eimeriozic invasion. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*. 19(73), 163–168. doi:10.15421/nvlvet7334.
- Korolenko, S.L., Marshalkina, T.V., & Zaikina, H.V. (2014). Suchasnyi stan shchodo endoparazytarnykh zakhvoriuvan sviiskoi ptytsi u gospodarstvakh stepovoi zony Ukrainy. *Veterynarna medytsyna Ukrainy*. 3, 20–22 (in Ukrainian).
- Medvid, S.M., Hunchak, A.V., Gutyj, B.V., & Ratych, I.B. (2017). Prospects of rational security chicken-broilers with mineral substances. *Scientific Messenger LNUVMB*. 19(79), 127–134. doi:10.15421/nvlvet7925.
- Peredera, O.O. (2008). Dezinvaziina diia Brovadezu-plus na ootsysty eimerii kroliv. *Naukovi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Gzhytskoho*. 10, 2(37), 207–212 (in Ukrainian).
- Pototskyi, M. (1999). Koktsydiozy (Coccidiosis). *Veterynarna medytsyna Ukrainy*. 7, 78–80 (in Ukrainian).
- Rose, M.E., & Hesketh, P. (1991). *Eimeria tenella*: localization of the sporozoites in the caecum of the domestic fowl. *Parasitology*. 102(3), 317–324. doi: 10.1017/S003118200064258.
- Sobolev, A.I., Gutyj, B.V., Petryshak, O.I., Golodjuk, I.P., Petryshak, R.A., & Naumyuk, O.S. (2017). Morphological and biochemical blood indicators of ducklings, which are raised for the purpose of meat with the different level of selenium in feeding-stuffs. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*. 19(74), 57–62. doi:10.15421/nvlvet7413.
- Svarchevskyi, O.A. (2006). Doslidzhennia ovotsydnoi dii baimeku i virkonu. *Naukovi visnyk NAU*. 98, 162–164 (in Ukrainian).
- Timohina, Yu.V. (2002). Vliyanie smeshannykh invaziy na immunobiologicheskuyu reaktivnost ptyts na fone obrabotki abiktinom. *Mater. dokl. nauch. konf. «Teoriya i praktika borbyi s parazytarnymi boleznyami»*. 3, 326–328 (in Russian).
- Vyisotskiy, A.E., & Ivanov, S.A. (2005). Metody ispytaniya protivomikrobnoy aktivnosti dezinfitsiruyuschiykh preparatov v veterinarii. *Veterinarnaya meditsina Belarusi*. 1, 46–48 (in Russian).
- Yakubovskiy, M.V. (2012). Parazytarnye zoonozy (monografiya). Minsk: Nasha Ideya (in Russian).
- Zavorodnii, A.I., Pavlenko, S.V., & Lutsenko, L.I. (2005). Metodychni rekomendatsii shchodo vyprobuvannia i zastosuvannia zasobiv dezinfeksii ta dezinvazii u veterynarii medytsyni. *Kh.: NNTs In-t eksperyment. i klinich. vet. medytsyny* (in Ukrainian).
- Zhang, L., Liu, R., Ma, L., Wang, Y., Pan, B., Cai, J., & Wang, M. (2012). *Eimeria tenella*: Expression profiling of toll-like receptors and associated cytokines in the cecum of infected day-old and three-week old SPF chickens. *Experimental Parasitology*. 130(4), 442–448. doi: 10.1016/j.exppara.2012.01.013.
- Zhou, Z.-Y., Hu, S.-J., Wang, Z.-Y., Guo, Z.-L., Qin, B., & Nie, K. (2014). Expression of Chicken Toll-Like Receptors and Signal Adaptors in Spleen and Cecum of Young Chickens Infected with *Eimeria tenella*. *Journal of Integrative Agriculture*. 13(4), 904–910. doi: 10.1016/S2095-3119(13)60384-6.