

IRENA ZIOMKO, EWA KUCZYŃSKA, TOMASZ CENCEK

Oporność kokcydii *Eimeria tenella* na kokcydiostatyki stosowane aktualnie w hodowli drobiu

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Instytutu Weterynarii,
Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Resistance of *Eimeria tenella* coccidia to coccidiostatics used in the poultry breeding

Evaluation of coccidia resistance to Amprol plus, Lasalocid and monensin was carried out on two weeks old chickens infested experimentally with 100 000 oocysts per bird.

Coccidiostatics for prophylactic purposes (Amprol plus — 133 ppm, Lasalocid — 75 ppm, monensin — 100 ppm) were given in feed 48 hours before infestation and then for 8 days after infestation. Sensitivity of 30 strains of *E. tenella* was assessed on the basis of anti-coccidiostatic index, i.e. total percentage of alive chickens and per cent of weight gains minus pathological gross index and oocyst index.

The highest mean values of anti-coccidiostatic index was reached following the Lasalocid administration ($x = 189.2$) and the lowest one after the monensin application ($x = 127.3$). The studies revealed that 11 strains of coccidia were of a lowered sensitivity to Amprol plus, 10 to Lasalocid and 15 to monensin. Besides, it was found that 8 strains of *E. tenella* had a lowered sensitivity to the three coccidiostatics applied.

Jednym ze sposobów zapobiegania kokcydiozie jest chemioprophylaktyka, która polega na stałym podawaniu kokcydiostatyków w mieszankach paszowych. Jednakże, mimo stosowania chemioprophylaktyki, przypadki kokcydiozy klinicznej u drobiu nie należą do rzadkości.

Przyczyną takiej sytuacji, oprócz błędów technicznych, jak: niedostateczne wymieszanie paszy z kokcydiostatykiem lub tzw. rozcieńczenie paszy przemysłowej paszą własnej produkcji, może być zmniejszona skuteczność preparatów w wyniku długotrwałego ich stosowania (9, 15, 16). Konsekwencją tego jest spadek wrażliwości kokcydii na działanie preparatów kokcydiostatycznych i nabywanie przez *Eimeria* lekooporności. Mechanizm tego procesu nie jest jeszcze w pełni poznany. Według Champana (7, 8) oporność kokcydii na kokcydiostatyki może wykształcić się na tle mutacji szczepów (szczególnie przy stosowaniu zmniejszonych dawek preparatu), bądź przystosowania się na drodze zmiany przepuszczalności błon komórkowych, biochemizmu komórkowego (zwłaszcza zmiany aktywności enzymów lub mechanizmu przemian komórkowych).

Kokcydia wykazują często oporność nie tylko na jeden kokcydiostatyk, ale także oporność krzyżową, tzn. na inne związki tej samej grupy chemicznej (2, 15).

W praktyce przeciwdziała się temu zjawisku poprzez wymienne stosowanie kokcydiostatyków (schuttle program) (4, 15, 16, 17, 21). Nabywanie lekooporności kokcydii zależy od rodzaju stosowanego preparatu. Według Reida oporność kokcydii szybko wykształca się na chinolany, średnio szybko na Clodol i Robenidynę, wolno na Amprolium oraz bardzo wolno na Nicarbazin i antybiotyki jonoforowe (24).

Celem pracy było wykazanie, czy Amprol plus, Lasalocid i Monenzyna, kokcydiostatyki stosowane od dłuższego czasu w hodowli drobiu w Polsce, wytworzyły odporne szczepy *Eimeria tenella*.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 2-tygodniowych kurczętach ogólnoużytkowych, hodowanych od pierwszego dnia życia w warunkach zabezpieczających je przed spontanicznym zarażeniem kokcydiami.

Poszczególne doświadczenia prowadzono jednocześnie na pięciu grupach kurcząt o wyrównanej masie ciała, po 10 ptaków w każdej. I grupa stanowiła kontrolę pozytywną — kurczęta nie zarażone i nie leczone, grupę II, III i IV stanowiły kurczęta, które otrzymywały w paszy kolejno Amprol plus, Lasalocid i Monenzynę. Grupa V, w której kurczęta zarażano i nie leczono stanowiła kontrolę negatywną.

Terenowe szczepy *Eimeria tenella* izolowano od kurcząt padłych z objawami kokcydiozy. Oocysty kokcydii zbierano z jelit ślepych wg metody opisanej przez Sołtysa i Wojtoń (26). Kurczęta zarażano doświadczalnie kokcydiami podając sondą do wola po 100 tys. sporulowanych oocyst na ptaka. Kokcydiostatyki podawano kurczętom zawsze w paszy, 48 h przed zarażeniem do 8 dnia po zarażeniu w następujących dawkach — Amprol plus — 133 ppm, Lasalocid — 75 ppm i Monenzynę — 100 ppm.

Ptaki ważono przed zarażeniem i 8 dnia po zarażeniu, bezpośrednio przed ubojem. Badane szczepy *E. tenella* oceniano na podstawie indeksu antykokcydialnego, który jest sumą procentu pozostałych przy życiu kurcząt i procentowego przyrostu względnej masy ciała, po odjęciu indeksu zmian patologicznych i indeksu oocyst. Dobry indeks wyraża się liczbą 180 i więcej, średni 160—179, ubogi poniżej 160 (26).

Wyniki i omówienie

Wyizolowano i oceniono na podstawie indeksu antykokcydialnego 30 terenowych szczepów *Eimeria tenella* pochodzących z klinicznych przypadków kokcydiozy — 12 szczepów z województwa lubelskiego, 8 z radomskiego, 5 z województwa rzeszowskiego oraz po 1 szczepie z województwa białkopodlaskiego, białostockiego, siedleckiego i wrocławskiego.

Jak wynika z zestawienia średnich i zakresu wartości indeksu antykokcydialnego 30 przebadanych szczepów *E. tenella* (tab. 1) w grupach kurcząt zarażonych i leczonych wartości te były z reguły wyższe niż w grupie ptaków zarażonych i nie leczonych (kontrola negatywna). Uzyskane wartości indeksu w kontroli negatywnej od 36 do 184 świadczą o występowaniu szczepów kokcydii bardziej i mniej patogennych. Zbliżone wartości indeksu w grupach ptaków zarażonych i leczonych do wartości w grupie kontroli negatywnej świadczą o nabyciu przez dany szczep *Eimeria tenella* lekooporności na stosowany kokcydiostatyk. Najwyższe średnie wartości indeksu antykokcydialnego uzyskano przy stosowaniu Lasalocidu ($\bar{x} = 189.2$), najniższe zaś przy stosowaniu Monenzyny ($\bar{x} = 127.3$).

Jak wynika z przeprowadzonych badań, wytworzyły się szczepy *Eimeria tenella* o zmniejszonej wrażliwości na kokcydiostatyki — Amprol plus, Lasalocid. Monenzyna stosowana w dawkach profilaktycznych w hodowli drobiu.

Średnie wartości niektórych składników indeksu antykokcydialnego badanych szczepów *E. tenella* zebrano w tab. 2. Jak wynika z zestawienia przy stosowaniu Amprolu plus 11 szczepów *E. tenella* uzyskało indeks

Tab. 1. Średnie i zakres wartości indeksu antykokcydialnego terenowych szczepów *Eimeria tenella*

Pochodzenie szczepów <i>E. tenella</i>	Liczba szczepów	Kokcydiostatyki			Kontrola negatywna
		Amprol plus	Lasalocid	Monenzyna	
Woj. lubelskie	12	131,6 74—182	146,7 3—356	127,3 17—226	85,5 —25—164
Woj. radomskie	8	140,4 49—235	166,9 134—199	129,1 52—181	86,8 —36—169
Woj. rzeszowskie	5	184,8 156—219	189,2 142—255	164,6 128—212	118,4 82—184
Pozostałe woj.	5	132,0 102—161	114,0 94—158	128,4 101—155	54,4 32—95

antykokcydialny poniżej 160 pkt. Zmniejszoną wrażliwość na Lasalocid wykazano u 10 szczepów *E. tenella*, a indeks antykokcydialny tych szczepów przyjmował wartości od 3 do 134 pkt. Względnie dobry indeks antykokcydialny przy stosowaniu Monenzyny uzyskała tylko połowa przebadanych szczepów kokcydii (od 160 do 226 pkt.).

Na uwagę zasługuje fakt, że z 30 zbadanych szczepów kokcydii 8 szczepów cechowała obniżona wrażliwość na 3 zastosowane kokcydiostatyki.

Procent przeżywalności kurcząt przy stosowaniu Amprolu plus, Lasalocidu i Monenzyny był niższy przy wartościach indeksu antykokcydialnego poniżej 160 od procentu przeżywalności przy wartościach indeksu powyżej 160. Różnica ta średnio wynosiła 18,2% (tab. 2).

Podobne różnice zaobserwowano również w przyrostach masy ciała kurcząt. Przyrosty masy ciała ptaków przy wartościach indeksu powyżej 160 pkt. były około 60% wyższe od przyrostów przy wartościach indeksu poniżej 160 pkt. Z trzech użytych kokcydiostatyków najwyższe przyrosty masy ciała ptaków uzyskano przy podaniu Lasalocidu, najniższe zaś przy podawaniu Amprolu plus.

Indeks oocyst jest ważnym składnikiem indeksu antykokcydialnego. Jak wynika z danych tab. 2, najwyższą liczbę oocyst wydalanych z kałem zaobserwowano w grupach ptaków otrzymujących Amprol plus, natomiast w grupach ptaków otrzymujących kokcydiostatyki jonoforowe, tj. Lasalocid i Monenzynę liczby te były niższe i do siebie zbliżone.

W badaniach własnych 36% przebadanych szczepów *E. tenella* cechowała zmniejszona wrażliwość na Amprol plus już w dawce 133 ppm. Pod koniec lat 60-tych Yvoré i Aycardi (27) wykazali wysoką skuteczność Amprolu plus już w dawce 30 ppm na *Eimeria tenella* u doświadczalnie zarażonych kurcząt. Sołtys i Wojtoń (26) nie uzyskali lekooporności przy stosowaniu tego kokcydiostatyku przez 20-krotne pasażowanie terenowego szczepu *E. tenella*, pomimo podawania leku w dawkach niższych od zalecanych profilaktycznie. Jednak w połowie lat siedemdziesiątych pojawiły się doniesienia dotyczące obniżonej wrażliwości kokcydii na Amprol plus. Jeffers wykazał na terenie USA oporność na ten kokcydiostatyk u 27% badanych szczepów kokcydii (12). Podobnie McDougald stwierdził wrażliwość na Amprol plus w dawce 129 ppm tylko u 39% szczepów kokcydii (20, 22) na 99 badanych. Natomiast Chroustova i Pinka wyizolowali jeden szczep terenowy *E. tenella*, który był odporny na ten kokcydiostatyk w wyniku stosowania zbyt małych dawek preparatu w paszy (9).

W badaniach własnych uzyskano zmniejszoną wrażliwość na Lasalocid u 33% przebadanych szczepów. Dane te znajdują potwierdzenie w piśmiennictwie. Według badań Bedrnika i wsp. (3) na 6 szczepów *E. tenella* izolowanych z terenu Czechosłowacji 3 szczepy cecho-

Tab. 2. Zestawienie średnich wartości niektórych składników indeksu antykokcydialnego z 30 badanych szczepów *E. tenella*

Kokcydiostatyki	Wartości indeksu antykokcydialnego powyżej 160			
	Liczba szczepów	Procent przeżywalności kurcząt	Średni przyrost masy ciała kurcząt w %	Średnia liczba oocyst na 1 kurczaka w mln.
Amprol plus	19	97,8	96,1	2,4
Lasalocid	20	97,0	109,0	2,9
Monenzyna	15	97,3	98,2	2,7
Kontrola — nie leczone	54	85,5	58,5	2,9
Kokcydiostatyki	Wartości indeksu antykokcydialnego poniżej 160			
	Liczba szczepów	Procent przeżywalności kurcząt	Średni przyrost masy ciała kurcząt w %	Średnia liczba oocyst na 1 kurczaka w mln.
Amprol plus	11	77,2	46,4	3,4
Lasalocid	10	82,3	57,1	2,7
Monenzyna	15	78,0	57,1	2,5
Kontrola — nie leczone	36	42,8	30,3	5,3

wała obniżona wrażliwość na ten kokcydiostatyk. W badaniach Mazurkiewicza i wsp. indeks antykokcydialny dla Lasalocidu w dawce 75 ppm (100 tys. oocyst *E. tenella* na ptaka) przyjmował wartość 172,2 zaś dla Monenzyny (100 ppm) 159,1. Według Brauniusa (5) po zwiększeniu dawki Lasalocidu do 125 ppm i zarażeniu kurcząt 50 tys. oocyst *E. tenella* na ptaka indeks antykokcydialny przyjmował wartość 199 pkt. Natomiast w badaniach Schildknechta i wsp. (25) spośród 58 szczepów kokcydii izolowanych od kurcząt z terenu USA 28% szczepów *E. tenella* wykazywało całkowitą lub częściową oporność na Lasalocid w dawce 68 g/t paszy. Wszystkie zaś szczepy były wrażliwe na ten kokcydiostatyk w dawce 91—113 g/t paszy.

Podobnie jak w badaniach własnych, Hencken (11) zaobserwował zwiększone przyrosty masy ciała kurcząt oraz wysokie wskaźniki wykorzystania paszy po podaniu Lasalocidu. Według wielu autorów (10, 14, 19, 23) kokcydiostatyk ten w przeciwnieństwie do Monenzyny nie wykazuje interakcji negatywnej w odniesieniu do stymulatorów wzrostu oraz innych chemioprotektów stosowanych w paszy. Jak wynika z badań własnych 50% badanych szczepów *E. tenella* cechowała obniżona wrażliwość na Monenzynę w dawce 100 ppm. Jeffers (13), badając 73 terenowe szczepy *E. tenella*, wykazał oporność na Monenzynę u 9 szczepów kokcydii. Podobnie w badaniach Bedrnika (1, 3) po 4-letnim stosowaniu Monenzyny w hodowli drobiu w Czechosłowacji na 6 badanych szczepów *E. tenella* 3 szczepy cechowała obniżona wrażliwość na ten preparat, zaś w latach 1984—85 autor ten (2) wyizolował z ferm drobiu ze

stacjonarnie występującą kokcydiozą 6 szczepów *E. tenella*, z których aż 5 cechowała oporność na wymienione kokcydiostatyki. McDougald (22) na 99 szczepów *Eimeria* sp. wyizolowanych z ferm brojlerów, wykazał wrażliwość na Monenzynę w dawce 100 ppm tylko u 33% badanych szczepów. Natomiast Braunitus (6) stwierdził oporność terenowego szczepu *E. tenella* na ten kokcydiostatyk w dawce 120 ppm.

Wyniki badań własnych oraz dane piśmiennictwa wskazują, że w hodowlach drobiu, w których występuje kokcydioza konieczne staje się ustalenie wrażliwości szczepów *E. tenella* na stosowane kokcydiostatyki.

Piśmiennictwo

1. Bedrník P.: Arch. Geflügelk. 47, 129, 1983.
2. Bedrník P., Jurkovič P., Firmanova A., Kučera J.: Vet. Med. Praga, 32, 731, 1987.
3. Bedrník P., Jurkovič P., Sevik B., Firmanova A., Kučera J.: Arch. Geflügelk. 49, 1, 1985.
4. Božičkovič P.: Nowości Wet. 16, 164, 1986.
5. Braunitus W. W.: Wild's Poult. Sci. 41, 198, 1985.

6. Braunitus W. W., Greuel E., Sezen Y.: Arch. Geflügelk. 48, 239, 1984.
7. Chapman H. D.: Avian Path. 7, 389, 1978.
8. Chapman H. D.: Parasitology 89, 9, 1984.
9. Chrostova E., Pinka K.: Vet. Med. Praga, 32, 35, 1987.
10. Frigg M., Brož J., Weber G.: Arch. Geflügelk. 47, 213, 1983.
11. Hencken H.: Wiad. Parazyt. 33, 315, 1987.
12. Jeffers T. K.: Avian Dis. 18, 331, 1974.
13. Jeffers T. K.: Avian Dis. 32, 157, 1978.
14. Kobulej T.: Wiad. Parazyt. 33, 309, 1987.
15. Kutzler E.: Wiad. Parazyt. 33, 399, 1987.
16. Mazurkiewicz M.: Medycyna Wet. 37, 571, 1981.
17. Mazurkiewicz M.: Nowości Wet. 14, 117, 1984.
18. Mazurkiewicz M., Gawet A., Zalesiński A.: Wiad. Parazyt. 33, 333, 1987.
19. Mazurkiewicz M., Jopek Z., Madej J. A., Kucharczyk E., Gawet A.: Proc. Vth Int. Coccidiosis Conf., Tour, 17-20 Oct. 1989, s. 272.
20. McDougald L. R.: Avian Dis. 25, 600, 1981.
21. McDougald L. R.: Proc. Conf. Research in Avian Coccidiosis. Athens, Georgia Nov. 19-21, 1985, s. 137.
22. McDougald L. R., Fuller L., Solis J.: Avian Dis. 30, 690, 1986.
23. Mitrovič M., Schildknecht E. G.: Poult. Sci. 54, 750, 1975.
24. Feld W. M.: Am. J. vet. Res. 33, 193, 1975.
25. Schildknecht E., Untwale G.: Proc. Vth Int. Coccidiosis Conf., Tour 17-20 Oct. 1989, s. 135.
26. Soltyś A., Wojtoń T.: Medycyna Wet. 30, 373, 1974.
27. Yvoré P., Aycardi J.: Vet. Abstr. Merck, Sharp, Dohme, Rahway Res. Lab., New Jersey, Oct. 1973, s. 159.

Adres autora: doc. dr hab. Irena Ziomko, ul. K. K. Baczyńskiego 10, 14-100 Puławy

TADEUSZ RATKIEWICZ, ZOFIA ROTKIEWICZ*, FRANCISZEK PRZAŁA**

Wpływ żywienia prosiąt w okresie okołoodsadzeniowym paszą zakwaszoną HCl na obraz morfologiczny i skład mikroflory żołądka i dwunastnicy*)

Katedra Anatomii Patologicznej, * Katedra Mikrobiologii Weterynaryjnej,
** Katedra Profilaktyki i Higieny Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego AR-T,
10-718 Olsztyn

Summary

Changes in the pathomorphological pattern and gastrointestinal microflora of piglets fed HCl — treated fodder during weaning period

The study was carried out on 28 days old piglets divided into two groups of forty each. One group received fodder supplemented with exogenous 0.18% HCl and a control group was fed on unacidified fodder. The piglets were slaughtered at the age of 35, 42, 49 and 56 days. Distinct morphological lesions were found in the gastric mucosa and duodenum of piglets fed on acidified fodder and slaughtered at 49—56 days of age. Histopathological changes included the damaged duodenal villi with cellular infiltration and an increased amount of acid mucin. The gastrointestinal microflora showed a decrease in the number of *E. coli* and an increase of yeast; the number of *Lactobacillus* strains remained unchanged.

Schorzenia przewodu pokarmowego u prosiąt nasilają się w okresie okołoodsadzeniowym i stanowią ważną przyczynę strat w hodowli trzody chlewnej (6, 8, 9). Jedną z naturalnych barier odporności alimentarnej jest wydzielanie kwaśnego soku żołądkowego, zawierającego HCl. U prosiąt osesków bariera ta jest bardzo słaba, co ułatwia zasiedlanie przewodu pokarmowego florą bakteryjną. Badania Schulze i Kielsteina (13) wykazały, że zasiedlanie to jest zakończone około czwartego dnia życia. Dominują w tym okresie w przewodzie pokarmowym pałeczki kwasu mlekowego. W okresie okołoodsadzeniowym wzrost kwasowości treści żołądka prosiąt jest zbyt słaby, na co wskazują badania innych autorów (1, 4, 5, 7), co sprzyja występowaniu zaburzeń w składzie mikroflory przewodu pokarmowego (2, 3, 9, 10, 11, 14, 15).

We wcześniejszej pracy (12) autorzy wykazali, że po-

dawanie sondą dożołądkowo prosiątom oseskom 0,18% roztworu kwasu solnego powodowało zmniejszenie się liczby pałeczek *E. coli* w żołądku i dwunastnicy, natomiast liczba pałeczek z rodzaju *Lactobacillus* nie ulegała zmianie. Podjęto więc dalsze badania nad wpływem żywienia prosiąt zakwaszoną paszą kwasem solnym w okresie okołoodsadzeniowym na skład mikroflory żołądka i dwunastnicy oraz na obraz patomorfologiczny błony śluzowej tych odcinków przewodu pokarmowego prosiąt.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na prosiątach wielorasowych (wbp × pbz × złotnicka pstra) w warunkach fermy przemysłowej w dwóch seriach, tj. w okresie wiosennym i jesienim. Część prosiąt oznaczonych jako grupa D była żywiona mieszaną paszową P (dla prosiąt) zakwaszoną 0,18% roztworem kwasu solnego. Drugą część prosiąt, oznaczonych jako grupa K, żywiono tą samą paszą bez zakwaszania. Wszystkie zwierzęta miały stały dostęp do wody. Doświadczenie rozpoczęto na prosiątach w wieku czterech tygodni i zakończono po ósmym tygodniu życia prosiąt. Zakwaszoną paszę przygotowywano codziennie wieczorem, stosując na 1 kg paszy jeden litr 0,18% roztworu kwasu solnego. Paszę podawano następnego dnia; nie zjedzona w danym dniu była usuwana z karmidelek. 0,18% roztwór kwasu solnego otrzymywano ze stężonego 36,6% technicznego kwasu solnego o ciężarze właściwym 1,36 g/cm³, rozcieńczając go w stosunku 1:200.

Badania laboratoryjne przeprowadzono na 80 losowo wybranych prosiątach, które uśmiercano w każdej serii po 5 sztuk z grupy K i D po 5, 6, 7 i 8 tygodniu życia. Bezpośrednio po śmierci przeprowadzano badanie sekcyjne oraz pobierano wycinki żołądka i dwunastnicy do badania mikrobiologicznego, histopatologicznego, histochemicznego oraz ultrastrukturalnego pod mikroskopem elektronowym transmisyjnym i skeningowym. W badaniach mikrobiologicznych uwzględniono ogólną liczbę bakterii tlenowych, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *E. coli*, *Micrococcus*, bakterii beztlenowych i grzybów. W badaniu histopatologicznym uwzględniono budowę morfologiczną żołądka i dwunastnicy, zachowanie

*) Praca wykonana w ramach programu CPBR 10.17/IV.