

ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ ПРОЯВИ НА НЕОНАТАЛНАТА КОЛИБАКТЕРИОЗА ПРИ ТЕЛЕТА ОТ ИНТЕНЗИВНИ ФЕРМИ

МИХНИ ЛЮЦКАНОВ, ВАЛЕНТИНА УРУМОВА, КОЙЧО КОЕВ
Тракийски университет, Ветеринарномедицински факултет - Стара Загора

В големите говедовъдни ферми стомашно-чревните инфекции са едни от най-честите причини за смъртност при новородените и бозаещите телета (Sivula et al., 1996; Svensson et al., 2003). Причините за тях са комплексни, но най-често се потвърждава участието на инфекциозни агенти - бактерии и вируси. При телетата в първите дни от живота диарии се асоциират преди всичко с ентеробактерии и на първо място с представители на вида *Escherichia coli* (Snodgrass, et al., 1986; Holland, R. E. 1990). Не всички щамове на този вид обаче имат диарогенен потенциал. Отговорни за чревното разстройство са щамове, обединени в няколко патовара *E. coli* - ентеротоксигенни (ETEC), ентеропатогенни (EPEC), дифузно адхерентни (DAEC) и др.

Ентеротоксигенните *E. coli* проявяват своя диарогенен ефект благодарение на продуцираните от тях термоллабилен (LT) и термостабилен ентеротоксин (ST), което се реализира след като се адхерират върху ентероцитите в тънките черва и най-вече като колонизират проксималната част от йеюна. Адхезията се медира от наличните по повърхността им фимбрии (пили), от няколко типа (Nagy and Fekete, 1999).

За появата на неонаталната колиентеротоксикоза от определящо значение е наличието на предиспониращи (рискови) фактори, най-често от хранителен произход и/или от хигиенно естество. Епидемизирането на диаричния синдром в интензивните ферми е резултат и от наличието на много възприемчиви индивиди, особено ако са лишени от въз-

можността да придобият пасивен коластрален имунитет и са налице фактори, улесняващи реализирането на предавателните механизми. Анализирането на тези фактори и изясняването параметрите на епидемичния процес е наложително условие за ефективност на превантивните мерки и контрола на тези заболявания. (Myers et al., 1984; Bendali et al., 1999b).

Целта на настоящото проучване беше да се направи анализ и опит за обобщение на най-важните и перманентно проявяващи се рискови фактори, както и да се анализират базисни количествени измерители на епидемичния процес в големи кравеферми, проблемни откъм неонатална колиинфекция.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Период на изследването: 2009 - 2010 г.

Стопанства: проучването обхваща 22 говедовъдни стопанства от 12 различни административни области на страната с насоченост към заболяванията при бозаещите телета с диаричен синдром .

Проби: целенасочено бяха получени и изследвани общо 188 проби. Те включваха 155 фецеса на бозаещи телета с чревно заболяване и още 33 проби от чревно съдържание на умрели телета след боледуване от инфекция с диаричен синдром

Бактериологични изследвания: пробите бяха изследвани чрез посеви върху кръвен агар (база БУЛБИО - НЦЗПБ) с 8% дефибринирана овнешка кръв, агар на McConkey

(Merck) и минимална казеинова среда - бульон и агар.

Идентификацията на изолатите се извършваше чрез конвенционални биохимични тестове, както и с идентификационната система *CRYSTAL* (Becton Dickinson). Доказването на ентеротоксигенните *E. coli* се осъществяваше индиректно чрез слайд аглутинация със специфичен наситен аглутиниращ серум F5 (K99).

Епидемиологични проучвания се основаваха на обследване на проблемни говедовъдни стопанства и включваха кохортни и междусекционни анализи. Основно се използваше методът на анкетните проучвания, както и контролирани наблюдения с отчитане на базисни измерители на епидемичния процес като:

- *Превалентност (Prevalence)* - изчислявахме я в проценти като отношение на броя на болелите животни в периода на наблюдение към общия брой на възприемчивите в анализирания група или стопанство през същия период.

- *Леталитет (Lethality)* определяхме като отношение на умрелите към броя на всички болели животни от възприемчивата популация по време на наблюдавания период.

- *Смъртността (mortality)* изчислявахме като отношение между броя на умрелите към броя на възприемчивите животни от популацията в началото на периода на наблюдението.

Тези показатели бяха диференцирано оценявани за телета, родени от юници и от стари

крави респ. при това в стада със и без активна превантивна имунизация. Чрез компютърен анализ беше изследвана и динамиката на осреднените стойности на същите тези показатели през различните месеци на годината с оглед оценка на сезонните колебания

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

При микробиологичните изследвания на пробите от чревно съдържание и фецеси бактериална находка, инкриминирана като етиологичен фактор на чревни инфекции беше установена в 93 от тях или 49.47%. От позитивните 93 проби като потенциални причинители на ентерити бяха инкриминирани общо 114 изолата, принадлежащи към 7 таксономични разновидности. (табл. 1).

Резултатите показват, че е налице категорично доминиране на ентеробактериите и в частност на вида *E. coli*. Той се установява като водещ етиологичен агент в 78% от позитивните за бактериална находка проби. Това го прави първостепенен фактор в етиогенезата на чревните заболявания на телетата в обследваните ферми след раждането им и през бозайния период. Втори по честота, но в много по-нисък процент (8.77%) се изолират представителите на р. *Clostridium* и специално вида *Clostridium perfringens*.

В опита за патотипиране на изолатите *E. coli*, проведено на базата детектиране на фимбриалния антиген, се установи, че при щамовете от новородени телета категорично доминират фимбрии от типа F5 (K99). Те се до-

Таблица 1. **Микробни разновидности, изолирани от новородени и бозаещи телета с диария**

Микробна разновидност	Брой изолати	%	Брой ферми
1 <i>Esherichia coli (ETEC)</i>	89	78.07	8
2 <i>Clostridium perfringens</i>	10	8.77	5
3 <i>Proteus. spp</i>	6	5.26	6
4 <i>Campylobacter jejunii</i>	4	3.51	2
5 <i>Enterococcus spp.</i>	2	1.75	1
6 <i>Yersinia enterocolitica</i>	2	1.75	1
7 <i>Salmonella spp.</i>	1	0.09	1

казаха при 92.4% от шамовете, а в 3.8% бе установено наличие на пили от типа F41.

Честотата на доказване на *ETEC* като етиологичен агент, отговорен за неонатални ентрити в първите две седмици от живота на телетата, е представена в табл. 2. Посочените дни отразяват началния ден на проявление на заболяването, а не деня на вземането на пробите за изследване.

Видно е, че представителите на този патоген участват в етиогенезата на чревните инфекции най-вече в началните дни от живота

на телетата. Най-висок процент се установява в първите три дни след раждането, след което тяхното изолиране рязко спада. На практика след 5-ия ден доказването им е инцидентно.

Този факт ни провокира да анализираме превалентността, леталитета и кумулативната смъртност от неонатални диарии при телетата асоциирани с *ETEC* в 12 стопанства с проведена активна имунизация и 9 стопанства без такава. Обобщените сравнителните данни са илюстрирани на фиг. 2.

Видно е, че в стопанствата с неваксинирани

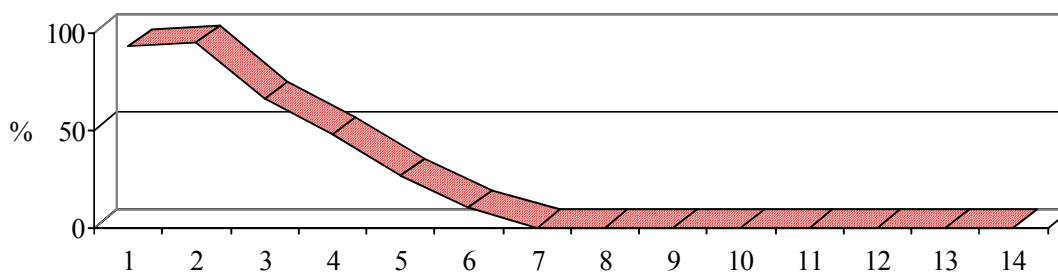
Таблица 1. Млечност за лактационен период на I и II лактация
Table 1. Milk production for lactation period for I-st and II-nd lactation

Група Group	I лактация / I-st lactation			II лактация / II-nd lactation		
	<i>n</i>	$x \pm S_x$	<i>C</i>	<i>n</i>	$x \pm S_x$	<i>C</i>
I	103	187.85± 4.06***	21.94	101	188.43±4.08***	21.76
II	111	211.22±3.91**	19.51	95	215.47± 4.21**	19.03
III	100	213.36±4.12***	19.31	87	221.83±4.40***	18.48
Общо средно Average	314	204.22±2.33	20.18	283	207.77±2.44	19.74

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

Таблица 2. Честота на изолиране на *ETEC* от новородени телета в първите 14 дни от живота в %

Ден от живота	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Изследвани проби	14	36	41	21	15	10	9	8	5	7	5	4	4	3
Доказани <i>ETEC</i>	13	34	27	10	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0
%	92.9	94.4	65.9	47.6	26.7	10	0	0	0	0	0	0	0	0



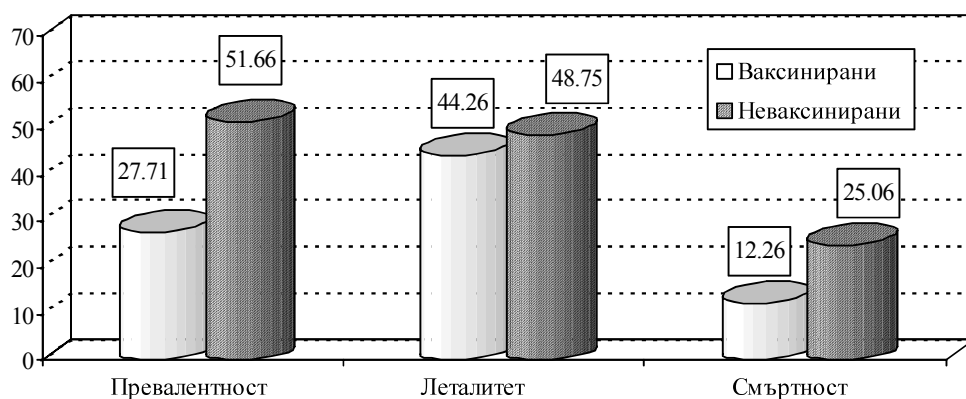
Фиг. 1.

крави превалентността е почти двойно по-висока (51.7%) в сравнение с ваксинираните стопанства (27.7%). Почти същата закономерност се установява и по отношение на показателя кумулативна смъртност - 25.1% срещу 12.2% респ. Единствено леталитетът почти не се променя, което е резонно, тъй като при вече заболелите животни, поради острия характер и бързия развой на заболяването въпреки налаганата терапия заболелите телета умират.

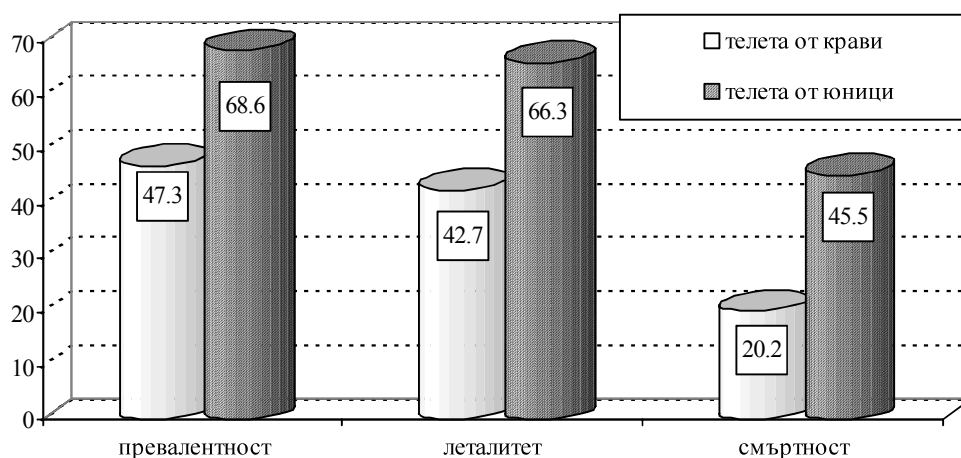
При обследването беше проведен и анализ за параметрите на същите показатели при телета, родени съответно от вече раждали крави и юници. При това анализът се отнасяше както за същите 12 ферми, непровеждащи вакси-

нация срещу ETEC, така и в другите 9, в които беше въведена такава активна профилактика. Установено беше, че в кравефермите, в които не се практикува превантивна имунизация, по-уязвими са телетата, родени от юници, в сравнение с тези, родени от стари крави, особено ако те са били дълго време в стопанството, а не са ново закупени. (фиг. 3).

При телетата, родени от неваксинирани стари крави средната стойност на възлиза на 47.3%, а при телетата, родени от юници тя е 68.6%. По отношение на леталитета резултатите сочат, че при телетата, родени от крави той е средно 42.7%, а при телетата от юници възлиза на 66.3%, т. е. повече от половината



Фиг. 2. Сравнителна оценка на превалентността, леталитета и кумулативната смъртност от неонатални диарии в говедовъдни ферми със и без ваксинация срещу ETEC



Фиг. 3. Превалентност, леталитет и смъртност от ETEC при телета, родени от крави и юници във ферми без ваксинация

от заболелите телета завършват летално. Получените резултати за показателя кумулативна смъртност за фермите без ваксинация сочат, че средно 20.2% от телетата, произхождащи от стари крави умират, докато при телетата, родени от юници, средната стойност на този показател е двойно по-висока - 45.5%.

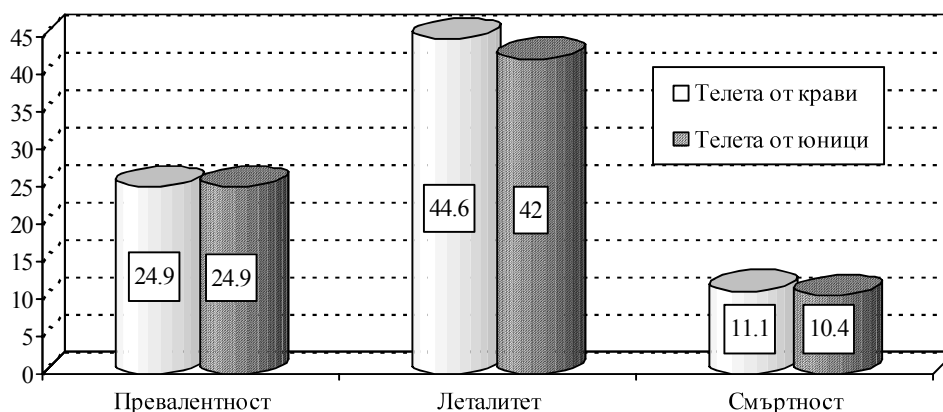
На следващата фиг. 4 са представени данните от аналогичен анализ на същите показатели при телета, родени от крави и юници в 9 ферми, в които е въведена регулярна активна имунизация срещу *ETEC*. Видно е, че като осреднена стойност превалентността за телетата, родени от ваксинирани крави е 24.9% и толкова за родените от ваксинирани юници. По отношение на леталитета резултатите също сочат подобна близост - съответно 44.6% за телетата, родени от стари крави и

42.0% за родените от юници.

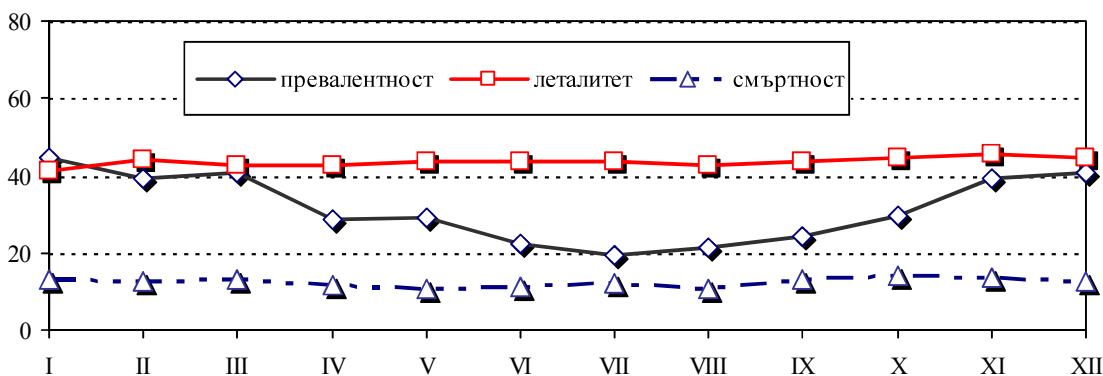
Сходни са и данните по отношение на кумулативната смъртност - при телетата, родени от ваксинирани стари крави, тя е средно 11.1%, а при родените от ваксинирани юници - 10.4%.

Що се отнася до месечната динамика на превалентността, леталитета и кумулативната смъртност от фиг. 3 се вижда, че превалентността на неонаталната колиентеротоксикозата е по-висока през студените месеци на годината (от ноември до март), докато през пролетно-летния сезон и ранната есен тя показва по-ниски стойности.

Анализът на най-честите рискови фактори, предиспониращи появата и проявленията на неонаталната колибактериоза при телетата от обследваните 12 ферми е отразен в табл. 3.



Фиг. 4. Превалентност, леталитет и смъртност от *ETEC* инфекция при телета от крави и юници във ферми с ваксинация



Фиг. 5. Месечна динамика на превалентността, леталитета и кумулативната смъртност от неонатални диарии при телетата с участието на *ETEC*

Таблица 3. Резултати от анализа на рисковите фактори, предиспониращи появата на неонатални диарии с участието на ентеротоксигенни *E. coli* в 12 неблагоприятни краевеферми

Рисков фактор	С		Т		О		П		А		Н		С		Т		В		А					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Липса на родилно помещение /сектор	-	++++	-	-	++++	-	++++	++++	++++	-	-	-												
Некомпетентна родилна помощ	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++	-	+	-												
Занижена хигиена на раждането	+	++++	+++	+	+++	+	++++	++++	++++	+	+	+												
Ненавременно забозаване на коластра	+	+	++	-	+	-	+	-	+	-	+	-												
Недостатъчно количество коластра	-	-	++++	-	-		++++		++++	++++	++++	-	++++											
Недостатъчно често хранене (под 3 пъти)	+	++	+	+	+++	++++	++++	+++	++++	++++	+	+++												
Студена или некачествена коластра	-	+	-	+	++	-	++	-	-	-	-	++												
Липса на индивидуални съдове и биберони	+++	++++	+	++++	+++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++												
Занижена хигиена на съдовете за поене	++	+	+++	+	-	+++	-	+	++	-	-	-												
Липса на дезинфекция на съдовете	+++	++++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++++	-	++++												
Недостатъчна хигиена на млечната жлеза	+	+	++	+	+	-	+	+	+	-	-	-												
Липса на престой на новороденото при майката	++++	-	++++	-	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++												
Занижена хигиена в индивидуалната клетка	-	+	++++	-	+	-	+++	-	-	-	+	-												
Висока влажност в индивидуалната клетка	-	-	++++	-	+	-	-	-	-	+	-	+												
Липса на индивидуални клетки	-	-	-	++++	-	-	-	-	++++	++++	-	-												

Легенда: (-) – Рисковият фактор не се констатира;
 (+) – Рисковият фактор се констатира инцидентно;
 (++) – Рисковият фактор се констатира често;
 (+++) – Рисковият фактор е почти постоянно в наличност;
 (++++) – Рисковият фактор е в наличност без прекъсване.

Видно е, че в повечето ферми действат едновременно няколко рисков фактора. Най-често те са свързани с акта на раждането и осигуряването на новороденото с майчина коластра, честотата на хранене през коластрения период, а също и с пропуски в хигиената на храненето и отглеждането в първите дни от живота.

Получените при обследванията резултати показват ролята на бактериалния фактор в етиологията на неонаталните чревни инфекции при телетата, съпроводени с диаричен синдром. Установеният от нас видов състав включва предимно Грам негативни представители и от тях най-често ентеробактерии (*E. coli*, *Salmonella spp.*, *Proroeus spp.*, *Y. enterocolitica*), но също и кампилобактерии, докато Грам позитивната микрофлора се представлява основно от клостридии и ентерококи. Подобен състав на патогенната микробна флора при новородените телета установяват още **Snodgrass et al.** (1986); **De Rycke et al.**, (1986).

Получените от нас резултати потвърждават становището на **Nagy and Fekete**, (2000) за първостепенната роля на ентеротоксигенните *E. coli* сред бактериалния етиологичен фактор и в голяма степен кореспондират с даните на **Younis et al.** (2009) при едно подобно проучване в Египет. И при нашите проучвания като най-чест фактор на патогенността се установяват фимбри от типа F5 (K99). Тяхното наличие предопределя продуцирането на термостабилен и термолабилен ентеротоксин, макар, че има съобщения (**Myers et al.**, 1984; **Nagy and Fekete**, 1999) за отсъствие на токсин-продукция при *E. coli* щамове, които носят този фимбриален антиген.

Установената висока честота на доказване на ентеротоксигенни *E. coli* в първите дни след раждането и рязкото спадане на тяхното изолиране след първата седмица предопределя характера на превантивните мерки - необходимост от пасивна коластрална защита чрез имунизация на майките и гарантиране на високо ниво на процеса на раждане и запояване на телетата с коластра. С това кореспон-

дират и установените като най-често повтарящи се рискови фактори, предиспониращи неонаталните диарии и в частност колиентеротоксикозата. Тяхното перманентно наличие предопределя и целогодишното проявление на колидиариите. Подобни са и констатациите на **Bendali et al.** (1999) при подобно проучване сред 3080 новородени телета от 94 ферми във Франция в края на миналото столетие. Наред с хигиената на храненето и мениджмънта на фермата те посочват и ролята на необезпечаването на майките и телетата с достатъчно витамини и минерали. И според тях, както и в нашите случаи, имунизацията на майките и особено на юниците е от първостепенно значение.

Нашите проучвания показват необходимостта от грижи за младите ремонтни животни, тяхното навременно въвеждане в основното стадо и имунизирването им с ваксини срещу най-честите причинители на неонатални диарии, тъй като родените от тях телета са по-чувствителни към инфектиране, боледуват по-често и по-тежко и не рядко с летален изход. Именно това налага извършване във всяка неблагополучна ферма на целенасочен епидемиологичен анализ и оценка на риска, което е условие за вярно определяне спецификата и тежестта на превантивните мерки.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Bendali F, M. Sanaa, H. Bichet, F Schelcher**, 1999a. Pattern of diarrhea in newborn beef calves in south west France. *Vet Res.* Sep-Oct; 30 (5):61-74.
2. **Bendali F, M. Sanaa, H. Bichet, F. Schelcher**, 1999b. Risk factors associated with diarrhoea in newborn calves. *Vet Res.* Sep-Oct;30(5):509-22.
3. **Combs D.K., A.N. Bringe, J.H., Crabb**, 1993. Protection of neonatal calves against K99-E. coli and coronavirus using a colostrum-derived immunoglobulin preparation. *Agri-Pract*;14:13-16.
4. **De Rycke, J., S. Bernard, J. Laporte, M. Naciri, M. R. Popoff, M. R Rodolakis**, 1986. Prevalence of various enteropathogens in the fe-

- ces of diarrheic and helthy calves. Ann. Rech. Vet., 17, 159-168.
5. **Holland, R. E.**, 1990. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. Microbiol Rev., 3, 345-375.
 6. **Snodgrass, D. R., H. R. Terzolo, D. Sherwood, I. Chambell, J. D. Menzies, B. A. Synge**, 1986. Aetiology of diarrhoea in young calves. Veterinary Record, 119, 31-34..
 7. **Myers, L. L., B. D. Firehammer, M. M. Border, D. S. Shop**, 1984. Prevalence of enteric pathogens in the feces of healthy beef calves. Am. J. Vet. Res., 45, 1544 -1548.
 8. **Nagy B., and P. Zs. Fekete**, 1999. Enterotoxi- genic Escherichia coli (ETEC) in farm animals. Vet. Res. 30, 259-284.
 9. **Sivula, N., J., Ames, T. R., W. E. Marsh, R. E. Werdin**, 1996. Descriptive epidemiology of morbidity and mortality in Minnesota dairy heifer calves. Preventive Veterinary Medicine, 27, 155-171.
 10. **Svensson, C., K. Lundborg, U. Emanuelson, S. O. Olson**, 2003. Morbidity in Swedish dairy calves from birth to 90 days of age and individual calf level risk factors for infectious diseases. Pre- ventive Veterinary Medicine, 58, 179-197.

EPIDEMIOLOGICAL EVIDENCE OF CALF NEONATAL COLIBACTERIOSIS IN LARGE INTENSIVE DAIRY FARMS

M. Lyutskanov, V. Urumova, K. Koev
Thrakia University, Veterinary Faculty - Stara Zagora

SUMMARY

During the period 2009-2010 twenty two large intensive dairy farms in 12 regions of Bulgaria were investigated for neonatal calf diarrhea. Epidemiological studies were purposely for determination of prevalence of enterotoxigenic E. coli as a primary causative agent and to determine the parameters of the disease in newborn calves population. A total of 188 samples were studied which 155 of suckler's faeces and 33 samples of bowel contents of dead calves after illness from diarrhea.

In the period of study in 49.5% of samples were positive for bacterial findings. One hundred and fourteen strains were isolated belonging to seven taxonomic varieties. This species is designated as a primary agent in the etiopathogenesis of intestinal diseases of calves during the first week of the live.

A higher prevalence of neonatal colibacteriosis were find out in the farms were do not use immunization as active prophylactic of pregnant cows against neonatal diarrhea. In the same farms a higher morbidity, case fatality and cumulative mortality were determinated among the heifers compared to those borned from older cows. No significant seasonal fluctuations have established in these indicators.

Key words: *neonatal colibacteriosis, ETEC, prevalence, case fatality, cumulative mortality*