



На правах рукописи

*Мусаткина*

**МУСАТКИНА ТАНЗИЛЯ БЯЗИТОВНА**

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И  
ПАТОМОРФОЛОГИЯ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ  
ПОРΟΣЯТ**

16.00.02 – патология, онкология и морфология животных

5 НОЯ 2009

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Саранск – 2009

Работа выполнена на кафедре патанатомии, инфекционных и инвазионных болезней животных (с 3 апреля 2009 г. реорганизована и переименована в кафедру ветеринарной патологии № приказа 01/12)  
ГОУВПО «Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук профессор  
**Васильева Валентина Алексеевна**

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук профессор

**Пахмутов Игорь Аркадьевич**  
(Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия,  
г. Н.-Новгород)

кандидат ветеринарных наук, заслуженный ветеринарный врач РФ, президент Ассоциации ветеринарных врачей Республики Мордовия  
**Денисов Василий Георгиевич**  
(Республиканская ветеринарная станция по борьбе с болезнями сельскохозяйственных животных, г. Саранск)

Ведущая организация: Российский университет дружбы народов, г. Москва

Защита состоится «27» ноября 2009 г. в 14<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета ДМ 212.117.15 при Мордовском государственном университете им. Н. П. Огарева (430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке им. М. М. Бахтина Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарева  
Автореферат диссертации опубликован на сайте Мордовского государственного университета [www.mrsu.ru](http://www.mrsu.ru). E-mail: [dsovet@mrsu.ru](mailto:dsovet@mrsu.ru)

Автореферат разослан 27 ноября 2009 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



**Т. А. Романова**

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Серьезной проблемой, сдерживающей дальнейший рост и развитие свиноводства, являются паразитарные болезни. Наибольший удельный вес среди них, особенно в последнее время, занимают простейшие, возбудители которых локализируются в желудочно-кишечном тракте животных. К числу малоизученных паразитов свиней относятся криптоспоридии, которые широко распространены в России и других странах мира.

Кокцидии родов *Eimeria* и *Cryptosporidium* встречаются у животных более чем в 85 % случаев. Паразитарные болезни причиняют весьма ощутимый материальный ущерб свиноводческим хозяйствам в результате падежа животных, снижения прироста массы тела, перерасхода кормов, повышения восприимчивости к инфекционным заболеваниям, увеличения затрат на лечение, снижения качества мяса и многих других факторов (Pavlasek I., Nikitin V. F., 1983; 1988; Бейер Т. В., 1987; Алтухов Н. М., 1993; Васильева В. А., 1998; 2002; 2006; 2008; 2009 и др.). Вышеизложенное диктует необходимость совершенствования методов ранней диагностики и прогнозирования болезни органов пищеварения, в частности гастроэнтеритов различной этиологии, в том числе криптоспоридиоза.

К настоящему времени отечественными и зарубежными исследователями накоплен большой материал по изучению морфологии и биологии криптоспоридиоза, эпизоотологии и диагностике этого заболевания, выяснены некоторые стороны его патогенеза и клинические особенности. Проведен ряд исследований по изысканию новых методов борьбы и профилактики.

Однако ряд вопросов, связанных с рассматриваемым заболеванием, изучен недостаточно глубоко и требует дальнейших исследований. В частности, это касается отдельных сторон патогенеза. Особенно слабо изучен характер обмена веществ в организме поросят при поражении их криптоспоридиозом, а это очень важно, поскольку только всестороннее комплексное исследование больного животного дает возможность полнее охарактеризовать патологический процесс для уяснения его этиопатологической сущности.

**Цель работы.** Целью нашей работы является сравнительная, гематологическая, биохимическая и патоморфологическая оценка происходящих в организме животных изменений при экспериментальном и спонтанном криптоспоридиозе.

**Задачи исследования.** Для достижения поставленной цели мы решали следующие задачи.

1. Установить распространение возбудителя криптоспоридиоза на различных объектах (фекалии, моча, внешний покров животных).

2. Изучить характер изменений некоторых показателей белкового и углеводного обмена, окислительно-восстановительных процессов в крови поросят при экспериментальном и спонтанном криптоспоридиозе.

3. Изучить активность ЩФ и КФ в сыворотке крови поросят при криптоспориidioзе.

4. Определить взаимосвязь между морфологическими, биохимическими и патоморфологическими показателями в динамике болезни.

**Научная новизна исследований.** Впервые при экспериментальном и спонтанном криптоспориidioзе у поросят исследованы показатели белкового и углеводного обмена, окислительно-восстановительные процессы в крови. Изучено распространение возбудителя криптоспориidioза во внешней среде в условиях Республики Мордовия.

Впервые дана сравнительная оценка гематологических, биохимических и патоморфологических данных, что позволило уточнить и расширить понятия о развитии основных симптомов болезни при экспериментальном и спонтанном криптоспориidioзе.

Результаты, полученные в процессе исследования, позволили с учетом литературных данных раскрыть ряд вопросов патогенеза криптоспориidioза у свиней.

**Практическая ценность работы.** На основе гематологических, биохимических и патоморфологических исследований установлена связь с определенными стадиями эндогенного развития криптоспориидий в динамике болезни, расширено представление о патогенезе криптоспориidioза поросят.

Материалы исследований дополняют информацию о вредном воздействии криптоспориидий на организм животных.

Полученные результаты рекомендуем использовать при переиздании учебников по паразитологии и патологической анатомии. Кроме того, результаты исследований используются при чтении лекций по паразитологии и инвазионным болезням сельскохозяйственных животных студентам специальности «Ветеринария», а также слушателям ФПК.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту.**

1. Биохимический состав сыворотки крови при экспериментальном и спонтанном криптоспориidioзе.

2. Показатели окислительно-восстановительных процессов при экспериментальном и спонтанном криптоспориidioзе.

3. Патоморфологические изменения в тонком отделе кишечника в местах постоянной локализации при экспериментальном и спонтанном криптоспориidioзе в сравнительном аспекте.

**Внедрение результатов исследований.** Основные положения диссертационной работы достаточно полно отражены в 5 научных статьях, из них 2 в рецензируемом журнале, и 1 методических рекомендациях. Полученные результаты внедрены в 10 лабораториях РМ, а также используются при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедре ветеринарной патологии по курсу «Паразитология и инвазионные болезни сельскохозяйственных животных» Аграрного института Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарева.

**Апробация работы.** Основные положения работы доложены на

XXXVII Огаревских чтениях Мордовского университета (Саранск, 2008); Всероссийской научно-производственной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» (Москва, 2009); Общероссийской научной конференции «Перспективы развития вузовской науки» (Москва, 2009); Международной научно-практической конференции «Достижения современной ветеринарной науки и практики в области охраны здоровья животных» (Краснодар, 2009); расширенном заседании кафедры ветеринарной патологии Аграрного института Мордовского государственного университета (протокол № 4 от 16 сентября 2009 г.).

**Личный вклад соискателя.** Представленная диссертационная работа является результатом восьмилетних научных исследований автора. Изучение распространения, сохранности возбудителя криптоспоридиоза во внешней среде, клинические и патоморфологические исследования, изучение биохимических и гематологических показателей, окислительно-восстановительных процессов выполнены соискателем лично.

В опубликованных совместно с научным руководителем В.А. Васильевой работах основная часть экспериментальной работы выполнена диссертантом. (В. А. Васильева не возражает против использования результатов совместных исследований, соответствующие справки представлены в совет по защите докторских и кандидатских диссертаций).

Работа выполнялась под научным руководством доктора ветеринарных наук профессора В. А. Васильевой, которая оказывала научно-методическую помощь в проведении исследований и анализе полученных результатов.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация состоит из общей характеристики работы, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических предложений, списка использованной литературы, приложения. Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста, иллюстрирована 48 рисунками, 4 таблицами. Список использованной литературы включает 177 источников, включая работы иностранных авторов.

## **2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Материалы и методы исследования**

Исследование выполнено в течение 2001–2009 г. г. на кафедре патанатомии, инфекционных и инвазионных болезней животных (с 3 апреля 2009 г. реорганизована и переименована в кафедру ветеринарной патологии № приказа 01/12) Аграрного института Мордовского государственного университета им. Н. П. Огарева в рамках задания «Механизмы морфогенеза и закономерности индивидуального развития организма в норме и при патологии» (№ гос. регистрации 01200704777).

Работа состояла из трех этапов. На первом изучали распространение криптоспоридиоза поросят различных возрастных групп. Были исследованы

292 пробы фекалий, 134 мазка с пятачков поросят, 134 пробы мочи и 12 проб соломенной подстилки. На втором этапе при экспериментальном заражении поросят ооцистами *S. parvum* изучали изменение общего белка, его фракций, гемоглобина, каталазы, глутатиона, щелочного резерва, сахара, пировиноградной кислоты, магния, хлоридов, ЩФ и КФ в динамике развития инвазии. Третий этап исследований включал изучение тех же биохимических показателей крови у поросят 14-дневного возраста при их спонтанном заражении ооцистами *S. parvum*.

Ооцисты криптоспоридий для экспериментального заражения поросят получали от инвазированных свиней в свиноводческих хозяйствах Республики Мордовия. Выделение ооцист из фекальных масс проводили методом Фюллеборна или Дарлинга, затем отмывали дистиллированной водой в 10-кратном объеме от соли и посторонних примесей методом центрифугирования (3 тыс. об/мин в течение 10 мин). Полученную биомассу ооцист криптоспоридий сохраняли с добавлением гентамицина или в 2,5%-ном растворе двухромовокислого калия. Предварительно перед постановкой опыта пробы фекалий трижды проверяли микроскопически для исключения другой инвазии. На этапе экспериментальных исследований нами использованы 30 поросят крупной белой породы массой 1,0 – 1,5 кг. Животные были разделены по принципу аналогов на опытную (25 голов) и контрольную группы (5 голов). При спонтанном заражении материалом для исследования явились 27 поросят 14-дневного возраста массой от 3,5 до 5 кг, инвазированных *S. parvum*. Поросята были разделены на опытную и контрольную группы (соответственно 18 и 9 голов).

Перед заражением культуру криптоспоридий тщательно размешивали на магнитной мешалке и проводили 3-разовый подсчет в камере Горяева, а затем набирали нужную дозу. Для заражения поросят использовали суспензию с содержанием в 1 мл физиологического раствора NaCl 1, 50, 100, 200 и 400 тыс. ооцист. Доза составляла 2 тыс. ооцист на 1 кг массы тела. Заражение проводили орально. Поросятам контрольных групп вводили физиологический раствор в дозе 1 мл на 1 кг массы тела. Для исключения возможного влияния времени суток на результаты исследования кровь у животных брали в одно и то же время – с 9 до 11 часов до заражения, на 3–14-е сутки после заражения у 5 голов в каждый срок. Пробы крови у поросят брали перед кормлением в количестве 4–5 мл. Кровь для гематологического анализа брали из сосудов уха, а для биохимического анализа – из непарной хвостовой вены, идущей под телами хвостовых позвонков, одноразовыми шприцами. Из нее готовили гепаринизированную кровь, а для приготовления сыворотки кровь из шприца осторожно, по стенке переливали в пробирку, помещали в ее теплое место (термостат при 37<sup>0</sup> С) на 20 минут, затем обводили тонкой спицей из нержавеющей стали или стеклянной палочкой и помещали в холодильник для уплотнения образовавшегося сгустка. Отделившуюся сыворотку сливали в отдельную пробирку, предварительно ее отцентрифугировав.

Для диагностики криптоспоридиоза использовали метод окраски мазков из фекалий больных животных стандартным методом – карболовым фуксином по Циль-Нильсену или по Романовскому – Гимзе и соскобов со слизистой оболочки кишечника подвергнутых убою поросят. Копроскопию до появления первых ооцист в фекалиях проводили через день, а затем ежедневно до убоя. Спустя 5 суток после заражения ооцисты криптоспоридий выявлялись в фекалиях. Ооцисты *S. parvum* от экспериментально зараженных животных окрашивались в мазках фекалий. Животных убивали на 4–12-е сутки после начала выделения ооцист. Для гистологического исследования использовали тощую и подвздошную кишки. Патологический материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и в жидкости Карнуа. Получали парафиновые и криостатные срезы, которые окрашивали гематоксилин-эозином, азур-эозином.

При выполнении работы использовали следующие методы: подсчет форменных элементов крови осуществляли общепринятыми методами в камерах Горяева (Кондрахин И. П. и др., 1985; Кондрахин И. П., 2004); общий белок, белковые фракции, активность щелочной и кислой фосфатаз, магний и хлориды определяли с помощью биохимического анализатора «Humalizer 2000»; содержание гемоглобина определяли по общепринятой методике (Кондрахин И. П., 2004); каталазную активность крови определяли по методу Баха А. Н. и Зубковой Р. С.; количество глутатиона определяли по Вурдворду и Фрей; щелочной резерв крови устанавливали газометрическим методом по Ван-Слайку; пировиноградную кислоту определяли калориметрическим методом по Фридману и Хаугену; содержание сахара определяли экспрессионным методом на ФЭКе; для обнаружения ооцист криптоспоридий готовили мазки фекалий, мазки с пятачков поросят, пробы мочи и соломенной подстилки от больных и подозреваемых в заболевании поросят в изотоническом растворе хлорида натрия, фиксировали смесью Никифорова или на пламени горелки и окрашивали карбол-фуксином по Циль – Нильсену.

Полученные данные анализировали и обрабатывали с помощью стандартных компьютерных программ статистической обработки.

### **3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1. Распространение и сохранность возбудителя криптоспоридиоза свиней во внешней среде**

Прошло более 100 лет с тех пор, как были открыты возбудители криптоспоридиоза, и тем не менее патогенез этого заболевания недостаточно изучен. Большинство исследователей считают, что криптоспоридии чаще всего поражают кишечник (Tzipori et al., 1982; Angus K. W., 1982; Fischer O., 1982; Sanford S. E., 1987; Nooruddin M., Sarma D. K., 1987; Landverk T., 1987; Coleman S. U. et al., 1989 и др.).

Случаи паразитирования их в других органах единичны. Так, у поросят развитие криптоспоридий может происходить не только в кишечнике, но и также в трахее (Schlomer L., 1982), в конъюнктиве глаза (Heine J. et al., 1984), а также в желчном пузыре (Asedo C. et al., 1995).

Кокцидии рода *Cryptosporidium* Tyzzer, 1910 (Apicomplexa, Sporozoa) имеют всеветное распространение среди животных и людей. В настоящее время установлены патогенность криптоспоридий, их способность циркулировать между животными и человеком (Angus K. W., 1983; Fayer R., Ungar B. L., 1986).

Экстенсивность заражения криптоспоридиями животных и человека в разных странах изучена неодинаково. В Республике Мордовия подобные исследования впервые были проведены В. А. Васильевой (1998), но исследованы были только фекалии поросят или содержимое кишечника. Перед нами была поставлена цель провести исследование на наличие ооцист *C. parvum*, кроме фекалий, мочи животных, подстилки, а также приготовленных мазков-отпечатков с различных участков тела животных. Проведенные исследования показали, что пятая их часть выделяют ооцисты криптоспоридий. Экстенсивность инвазии у поросят достигала в среднем 72,3 %. Ооцисты обнаруживали уже на 1-е сутки после рождения, у 9 поросят из 25, что составляет 36,0 %. Экстенсивность инвазии у свиней разных возрастных групп колеблется от 20,0 % у поросят старше одного года до 91,3 % – у 8-суточных.

Ооцисты были найдены также в мазках с пятачков 12-суточных поросят (у 3 из 15), 10-суточных (у 1 из 15), 8-суточных (у 2 из 16). Ооцисты были обнаружены и в 2 пробах мочи от 12-суточных поросят. В последнем случае интенсивность была невысокой – 1–2 ооцисты в 10–20 полях зрения микроскопа. При исследовании 12 проб соломенных подстилок в 6 были обнаружены от 3 до 10 ооцист в поле зрения.

Проведенное исследование выявило значительное распространение криптоспоридий среди поросят всех возрастных групп, при этом какой-либо сезонной зависимости не наблюдалось. Все отмеченные различия зараженности криптоспоридиями у поросят связаны с условиями их содержания и кормления.

### 3.2. Результаты клинического исследования

Как известно, кровь составляет внутреннюю среду организма, так как, соприкасаясь со всеми тканями и клетками, она обеспечивает их жизнедеятельность, являясь посредником между внешней средой и клетками. У высших животных кровь омывает практически все клетки, доставляя к ним необходимые вещества и унося от них продукты жизнедеятельности. Состав крови свидетельствует о характере процессов, происходящих в организме. Наиболее полно обмен веществ между кровью и тканями протекает в капиллярной системе.

В организме животных кровь выполняет транспортную роль (транс-



порт кислорода к тканям и углекислого газа от тканей к легким, транспорт питательных веществ и удаление из тканей конечных продуктов обмена); регуляторную (поддерживает постоянно рН и осмотическое давление, доставляет к тканям гормоны); защитную (ее антитела и лейкоциты, связывая возбудителей болезней и продукты их жизнедеятельности, предохраняют организм от заболевания).

Целью наших исследований явилось изучение морфологических показателей крови животных, инвазированных ооцистами криптоспоридий экспериментально и спонтанно.

Проявление клинической картины криптоспоридиоза у поросят (средняя степень инвазии) большей частью начинается периодическим ухудшением общего состояния. Затем появляются симптомы расстройства пищеварения: понос, снижение аппетита, отставание в росте, снижение массы тела. Прирост массы подопытных животных составлял 50–55 г.

При клиническом осмотре и термометрии установлено, что температура тела у всех подопытных поросят была незначительно повышена – от 40,4 до 40,6 °С на 8-е и 12-е сутки после заражения, когда происходит массовое размножение и выделение ооцист *S. parvum* во внешнюю среду, а в остальные дни у всех подопытных животных температура была в пределах нормы и колебалась от 38,6 до 39,6 °С. Отклонений в приеме молозива у поросят не отмечали. Их зараженность ооцистами *S. parvum* отрицательно повлияла на гематологические показатели.

Так, у животных, экспериментально инвазированных криптоспоридиями, уровень эритроцитов был на 2 раза ниже, чем в контрольной группе. К началу массового выделения ооцист – на 8-е и 12-е сутки наблюдается снижение количества эритроцитов соответственно до  $4,56 \pm 1,10$  и  $4,84 \pm 0,95$  млн/мм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ), а к 14-м суткам их количество приближается к уровню контрольных животных –  $6,8 \pm 0,37$  млн/мм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ). У поросят, инвазированных спонтанно, на 8-е и 12-е сутки эритроцитов было  $5,05 \pm 0,07$  млн/мм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ) против  $5,71 \pm 0,19$  млн/мм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ) у контрольных животных ( $5,05 \pm 0,07$  млн/мм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ) в начале опыта). Имеющаяся разница в количестве эритроцитов в крови животных контрольных и опытных групп при статистической обработке оказалась достоверной. Самое низкое количество лейкоцитов было у поросят контрольной группы –  $8,65 \pm 0,01$  тыс./мм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ), а на 8-е сутки после заражения увеличивалось и составляло  $13,80 \pm 0,93$  тыс./мм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ) и в последующем держалось до 14-х суток на уровне  $13,60 \pm 0,70$  тыс./мм<sup>3</sup> ( $P < 0,05$ ). Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) колебалась с 1,9 до 2,7 мм/ч.

### 3.3. Биохимические показатели крови у поросят при криптоспоридиозе

Белки – высокомолекулярные органические соединения, построенные из остатков аминокислот. Они составляют структурную и функциональную

основу любого живого организма, так как с их деятельностью связано существование живой материи.

В организме животного белки выполняют ряд жизненно важных функций: структурную, каталитическую, защитную, транспортную, энергетическую, участвуют в передаче наследственности и др. С деятельностью белков связаны все основные проявления жизни: раздражимость, сократимость, способность к росту, развитию, размножению, приспособляемость к среде, пищеварение и выделение конечных продуктов обмена. Патология белкового обмена проявляется в различных формах. Различают два вида белкового голодания: первичное, когда в кормах нет достаточного количества незаменимых аминокислот, и вторичное, вызываемое заболеваниями пищевого канала, печени, поджелудочной железы. У животных замедляется рост, появляются общая слабость, отеки, нарушается костеобразование, наблюдаются потеря аппетита, поносы. Возникает отрицательный азотистый баланс, наступает гипопротейемия (в крови уменьшается содержание белков на 30–50 %).

У поросят при экспериментальном заражении криптоспоридиозом отмечалось более низкое содержание общего белка в крови по сравнению с контрольными животными. Это различие, на наш взгляд, в течение первых четырех суток после заражения связано с интенсивным внедрением ооцист криптоспоридий в зону щеточной каемки тонкого отдела кишечника, особенно в подвздошный отдел. В этот период происходит массовое поражение клеток ворсинок и желез паразитами (макро- и микрогаметами, ооцистами на разных стадиях развития), что обуславливает атрофию собственной пластинки слизистой оболочки ворсинок, их деформацию и атрофию, разрушение энтероцитов, замещение погибших крипт скоплениями эозинофилов, лимфоцитов. Это объясняется циклом развития криптоспоридий. Все циклы развития происходят в организме одного и того же хозяина и завершаются формированием 2 типов ооцист. Ооцисты первого типа, составляющие большинство, имеют толстую стенку и выводятся с фекалиями. Оставшиеся, которые имеют тонкую стенку, освобождают спорозонты в кишечнике, вызывая аутоинвазию. Это объясняет длительное сохранение паразита в организме хозяина даже при отсутствии повторных заражений. Выделившиеся толстостенные ооцисты устойчивы к действию неблагоприятных факторов, способны длительно сохранять жизнеспособность и инвазионность во внешней среде (от 4–6 месяцев до 1 года). Все это приводит к нарушению пищеварения, возникновению аллергических процессов, связанных с развитием патологии в организме зараженных животных.

По мере развития болезни отмечались некоторые сдвиги в белковой формуле крови. Количество альбуминов при экспериментальном заражении поросят ооцистами *S. parvum* постепенно снижалось. У поросят, заразившихся в естественных условиях, эта разница составляла  $38,3 \pm 1,39$  г% ( $P < 0,05$ ) и на 8-е сутки достигало  $31,9 \pm 0,56$  г% ( $P < 0,01$ ) против  $35,4 \pm 0,58$  г% ( $P < 0,01$ ) в

контрольной группе.

Показатели  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулинов в динамике криптоспориозного процесса существенно не изменяются. Однако следует отметить, что содержание этих фракций, как правило, превышало их величину у контрольных животных. На устойчивость новорожденных поросят к патогенным факторам в значительной степени влияет уровень  $\gamma$ -глобулинов в крови, который зависит от времени первого кормления, кратности его в последующем, количества и качества полученного молозива, абсорбционной способности слизистой тонкого отдела кишечника, сезонных и стрессовых факторов, гормонального статуса новорожденных, генетических факторов.

Низкий уровень колострального иммунитета, нарушение технологии кормления и параметров микроклимата ведут к тому, что организм новорожденного не в состоянии не только справиться с возбудителями заболеваний, попавших извне, но и держать представителей собственной микрофлоры в рамках «мирного сосуществования».

Указанные факторы могут иметь отрицательное влияние на заболеваемость новорожденных поросят диарсией.

В качестве теста оценки естественной резистентности поросят было взято содержание  $\gamma$ -глобулинов в сыворотке крови. За норму у 1–4-суточных поросят принимались их показатели 25,0–55,1 г% (Кондрахин И. П., 2004). Было установлено, что экспериментально инвазированные поросята до заражения имели пониженное содержание  $\gamma$ -глобулинов. На 4-е сутки их уровень составлял  $20,8 \pm 0,54$  г% ( $P < 0,05$ ), в момент массового выделения ооцист криптоспоридий, то есть на 8-е сутки, –  $18,5 \pm 0,43$  г% ( $P < 0,05$ ), на 12-е сутки –  $16,8 \pm 0,61$  г% ( $P < 0,05$ ).

Даже в период выздоровления поросят – на 14-е сутки с начала заражения – количество  $\gamma$ -глобулинов в сыворотке крови все еще было низким –  $14,0 \pm 0,37$  г% ( $P < 0,05$ ). До спонтанного заражения содержание  $\gamma$ -глобулинов в сыворотке крови поросят составляло  $20,5 \pm 0,60$  г% ( $P < 0,05$ ), а на 4-е сутки после заражения –  $18,8 \pm 0,47$  г% ( $P < 0,01$ ) и на 8-е –  $16,2 \pm 0,68$  г% ( $P < 0,05$ ).

Диспротеинемия, характеризующаяся уменьшением количества альбуминов и уровня глобулинов, наиболее выражена в период массового выделения ооцист криптоспоридий, что указывает на корреляционную зависимость. Мы полагаем, что отмеченные изменения в белковой формуле сыворотки крови пораженных криптоспориозом поросят являются следствием, с одной стороны, нарушения белкового обмена, с другой – проявления иммунологической реактивности.

Магний и хлориды широко распространены в природе и попадают в организм с кормом и водой. Уровень магния составляет около 0,05 %, хлоридов – 0,08 % от общей массы животного. Их всасывание происходит в желудке и тонкой кишке. При экспериментальном и спонтанном криптоспориозе количество магния в сыворотке уменьшается от 1,0 до 0,2 ммоль/л с последующим незначительным повышением, хлоридов – от 99,1 до 79,2

мкмоль/л, что приводит к нарушению желудочно-кишечного всасывания.

Повышение активности того или иного фермента является весьма ранним диагностическим тестом. Результаты наших исследований показали, что первые изменения в опытной группе появились на 3-ти сутки после заражения и выражались в увеличении количества щелочной и кислой фосфатаз. На 5-е сутки наблюдали рост уровня щелочной фосфатазы с  $41,01 \pm 0,06$  ( $P < 0,001$ ) до  $176 \pm 0,07$  ( $P < 0,001$ ) мкмоль/л.ч., а кислой фосфатазы –  $49,02 \pm 0,09$  ( $P < 0,001$ ) до  $150,2 \pm 1,06$  ( $P < 0,001$ ) мкмоль/л.ч.. На 8-е сутки их уровень составил соответственно  $512 \pm 0,04$  ( $P < 0,001$ ) и  $382 \pm 0,08$  ( $P < 0,001$ ) мкмоль/л.ч., а на 10-е отмечено значительное уменьшение содержания этих ферментов – соответственно до  $370,5 \pm 0,05$  ( $P < 0,001$ ) и  $264,4 \pm 1,05$  ( $P < 0,001$ ) мкмоль/л.ч. На 12-е сутки их уровень снизился еще больше – соответственно до  $222,6 \pm 0,06$  ( $P < 0,001$ ) и  $190,3 \pm 0,06$  ( $P < 0,001$ ) мкмоль/л.ч.

Таким образом, изменения биохимического состава крови у поросят при криптоспориidioзе отражают развитие патологических и иммунных процессов и свидетельствуют о стрессовом состоянии организма, а также весьма объективно оценить действие различных факторов на организм при криптоспориidioзе.

### **3.4. Показатели окислительно-восстановительных процессов у поросят при криптоспориidioзе**

Биологическое окисление (тканевое дыхание) представляет собой совокупность окислительно-восстановительных реакций, протекающих в живых организмах. Подавляющее большинство этих реакций являются ферментативными. Окислительные реакции занимают одно из центральных мест в процессах обеспечения энергетических потребностей клетки и организма в целом.

В 1774 г. Лавуазье доказал, что процесс горения представляет собой соединение горючего тела с кислородом воздуха. Он установил, что при горении органических тел образуются продукты горения –  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  и выделяется свободная тепловая энергия.

По теории В. И. Палладина, в основе биологического окисления лежит реакция дегидрирования окисляющегося вещества, т.е. отторжение атомов водорода от его молекулы.

Немецкий исследователь Виланд в 1920-е годы, изучая процессы биологического окисления, установил, что окисление спирта в альдегид, а альдегида в кислоту происходит и в отсутствие кислорода. Такое окисление осуществляется путем дегидрирования.

По теории А. Н. Баха при биологическом окислении образуются пере-

кисные соединения. Под действием легкоокисляемых веществ происходит разрыв одной двойной связи в молекуле кислорода с образованием промежуточного продукта – перекисного кислорода.

В 30-х годах прошлого столетия Д. Кейлин открыл внутриклеточные пигменты – цитохромы, А. О. Варбург – цитохромоксидазу, и теория Палладина – Виланда была дополнена следующими положениями:

- 1) для биологического окисления необходимо не только дегидрирование веществ, но и активация кислорода, к которому в конечном счете от окисляющегося вещества переносится водород;
- 2) активация кислорода осуществляется железосодержащими ферментами и пигментами – цитохромами;
- 3) дегидрирование и активация кислорода всегда происходят одновременно.

Кроме теории Палладина – Виланда в конце XIX столетия была предложена теория прямого окисления веществ в тканях, придававшая основное значение в процессе окисления активации кислорода.

Впервые на возможность активации кислорода в организме указал Шенбейн. Однако основная заслуга в разработке теории активации кислорода принадлежит А. Н. Баху (1987), который обосновал представление о существовании ферментов, катализирующих присоединение кислорода к веществу и его окисление.

У инвазированных поросят значительное изменение активности каталазы в крови животных наблюдалось в течение всей болезни. У экспериментально зараженных поросят величина каталазной активности снижалась до  $5,83 \pm 0,20$  мг  $H_2O_2$  ( $P < 0,01$ ), при спонтанной инвазии – до  $4,33 \pm 0,50$  мг  $H_2O_2$  ( $P < 0,05$ ).

Содержание общего глутатиона и его восстановленной фракции у поросят, пораженных криптоспориديозом, имело тенденцию к снижению. На 4-е сутки после экспериментального заражения количество общего глутатиона было  $29,93 \pm 1,05$  мг%, на 8-е сутки –  $19,9 \pm 1,04$  мг%, на 12-е –  $29,65 \pm 0,76$  мг% и на 14-е –  $29,16 \pm 0,66$  мг% ( $P < 0,05$ ), при спонтанной инвазии оно снижалось с  $25,42 \pm 1,31$  мг% на 4-е сутки до  $23,25 \pm 1,78$  мг% ( $P < 0,01$ ) на 8-е сутки. Восстановленный глутатион в крови поросят при экспериментальном криптоспориديозе понижался до  $21,53 \pm 0,35$  мг% ( $P < 0,01$ ), а при спонтанном – до  $18,17 \pm 1,21$  мг% ( $P < 0,01$ ) по сравнению с контролем. У экспериментально инвазированных животных ее уровень увеличивался с  $7,0 \pm 0,22$  до  $8,22 \pm 0,31$  мг% ( $P < 0,05$ ), у спонтанно инвазированных – с  $4,80 \pm 0,22$  до  $7,52 \pm 0,58$  мг% ( $P < 0,05$ ).

Результаты определения резервной щелочности крови у поросят в динамике криптоспоридиозного процесса свидетельствуют о нарушении кислотно-щелочного равновесия. Резервная щелочность во всех двух опытах снижалась: при экспериментальном криптоспоридиозе – до  $31,9 \pm 1,10$  %  $CO_2$

( $P < 0,05$ ), при естественном заражении – до  $20,73 \pm 1,02$  %  $\text{CO}_2$  ( $P < 0,05$ ).

Результаты исследования содержания сахара в крови свидетельствуют о снижении его уровня на 8–14-е сутки при экспериментальном заражении с  $74,9 \pm 1,88$  до  $71,5 \pm 1,10$  мг% ( $P < 0,05$ ) и при спонтанном заражении на 4–8-е сутки с  $74,7 \pm 2,91$  до  $58,1 \pm 1,64$  мг% ( $P < 0,05$ ). Это объясняется тем, что адсорбируют из крови глюкозу и другие моносахариды, необходимые для поддержания нормальной деятельности. Уровень пировиноградной кислоты в крови экспериментально и спонтанно зараженных поросят был выше по сравнению с животными контрольных групп и составлял  $2,40 \pm 0,07$  и  $2,91 \pm 0,09$  мг% ( $P < 0,05$ ) соответственно.

### **3.5. Патоморфологические изменения в тонком отделе кишечника поросят экспериментально и спонтанно инвазированных ооцистами *S. parvum* в сравнительном аспекте**

Основная функция кишки заключается в переваривании и всасывании питательных веществ, кроме того, она выполняет экзокринную, эндокринную, иммунную, моторно-эвакуаторную функции. Сложность функционирования кишки обусловлена гетерогенностью структуры и архитектоники стенки тонкой кишки. Структурно-функциональной единицей слизистой оболочки тонкой кишки является комплекс крипта – ворсинка. В этой системе имеются определенные динамические взаимоотношения между пролиферирующими, дифференцирующими, функционирующими и экструдирующимися эпителиальными клетками. У поросят при экспериментальном криптоспоридиозе, убитых на 4-е и 6-е сутки после инвазирования, слизистая оболочка тощей кишки характеризуется утолщением и укорочением ворсинок, в просвете обнаруживаются ооцисты *S. parvum*, покрытые призматическим эпителием. Выявляются бокаловидные клетки с вакуолизированной цитоплазмой, просвет кишечных крипт расширен, в нем имеются следы слизи и единичные слущенные клетки эпителия. В последующие сроки, через 8–10 суток, слизистая оболочка тощей кишки с полиморфными, несколько отечными ворсинками, покрытыми призматическим эпителием, с наличием бокаловидных клеток с вакуолизированной цитоплазмой.

Просвет отдельных кишечных желез (крипт) расширен, содержит слизь, единичные клетки слущенного эпителия, лимфоциты, гистиоциты, плазматические клетки, скопления ооцист и шизонты. В строме ворсинок наблюдаются явления слабого отека с единичными лимфоцитами и гистиоцитами. Подслизистая основа разрыхлена, с кровеносными и лимфатическими сосудами, с явлениями гемо- и лимфостаза, слабой клеточной инфильтрацией из лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток.

На 12-е сутки после инвазирования в тощей кишке слизистая с утолщенными полиморфными ворсинками, покрытыми призматическим эпителием с примесью бокаловидных клеток с вакуолизированной цитоплазмой. В

просвете кишечных крипт встречаются лимфоциты, гистиоциты и клетки слущенного эпителия, а также ооцисты *S. parvum*. Мышечная пластинка слизистой оболочки тонкая, местами плохо прослеживается. Подслизистая основа разрыхлена, с крупными очагами скопления однотипных округлых дуоденальных желез с артериальными и венозными сосудами и лимфатическими щелями, мелкими клеточными инфильтратами из лимфоцитов, гистиоцитов и плазматических клеток.

Первые изменения в подвздошной кишке выявляются на 4–6-е сутки после заражения. Слизистая оболочка представлена полиморфными, местами деформированными ворсинками, видны скопления ооцист на различных стадиях развития. Кишечные железы удлинены, покрыты призматическим эпителием и большим числом бокаловидных клеток с вакуолизированной цитоплазмой. В просвете ворсинок местами видны узкие лимфатические щели и мелкие капилляры с явлениями гемостаза. В просвете кишечных крипт следы слизи и единичные клетки слущенного эпителия.

У поросят, убитых на 8-е сутки после заражения, в подвздошной кишке слизистая с полиморфными, местами деформированными ворсинками, покрытыми призматическим эпителием. В просвете ворсинок видны ооцисты *S. parvum*. В просвете кишечных крипт следы слизи и единичные клетки слущенного эпителия.

Через 10 суток после инвазирования в подвздошной кишке слизистая представлена удлинёнными полиморфными, местами деформированными ворсинками, покрытыми призматическим эпителием. Единичные бокаловидные клетки имеют вакуолизированную цитоплазму. В просвете отдельных ворсинок видны тонкие лимфатические щели и мелкие капилляры с явлениями гемостаза. Просвет кишечных желез несколько расширен, содержит единичные клетки слущенного эпителия.

На 12-е сутки после заражения также фиксируются изменения, но они более сглажены.

При спонтанном заражении наблюдается генерализация процесса в стенке кишечника. В результате возникающих дегенеративных процессов в большинстве случаев не завершается полный цикл развития кишечных стадий криптоспоридий, что ведет к уменьшению числа выделившихся ооцист со сформированными спорозонтами. При этом отмечаются более тяжелое клиническое проявление заболевания и соответственно более выраженные патолого-гистологические изменения в стенке кишечника. Мы полагаем, что выделение ооцист *S. parvum* зависит от дозы заражения: чем она больше, тем меньше интенсивность инвазии.

Кроме этого, отмечается набухание слизистой оболочки тощей и подвздошной кишок, обусловленное выраженной в различной степени инфильтрацией собственной пластинки слизистой оболочки лимфоцитами и эозинофилами. Отмечались деформация ворсинок и гибель желез с замещением их скоплениями из эозинофилов и лимфоцитов. В просвете отдельных ворсинок

видны ооцисты *S. parvum*, а в других – тонкие лимфатические щели и мелкие капилляры с явлениями гемостаза. В просвете щели кишечных крипт следы слизи и единичные клетки слущенного эпителия. Единичные бокаловидные клетки имеют вакуолизированную цитоплазму.

Результаты наших исследований показали, что при экспериментальном и спонтанном криптоспориidioзе поросят низкие защитные возможности организма обуславливают заражение *S. parvum* в сильной степени, в результате чего развиваются воспалительно-дегенеративные процессы в кишечнике и, как следствие, профузная диарея, приводящая к истощению и гибели животных.

## ВЫВОДЫ

1. Проведенными исследованиями установлена криптоспориidioзная инвазия во внешней среде (в мазках с пятачков поросят – до 20,0 %, в моче – 13,3 %, соломенной подстилке – 50,0 %). Экстенсивность инвазии у 8-суточных животных достигала 91,3 %, месячных – 36,8, 2-месячных – 33,3 и старше одного года – 20,0.

2. Под влиянием криптоспориidioзной инвазии при экспериментальном и спонтанном заражении в организме поросят происходят значительные морфологические изменения: увеличивалось количество лейкоцитов, уменьшалось содержание эритроцитов, гемоглобина, а СОЭ колебалось от 1,9 до 2,7 мм/ч. Клиническое течение характеризовалось субфебрильной лихорадкой, угнетением, диареей. Лихорадка обычно предшествовала периоду массового выделения ооцист с фекалиями.

3. Белковый состав сыворотки крови характеризуется снижением количества общего белка до  $5,56 \pm 0,10$  г% у пораженных животных; постепенным снижением уровня альбуминов – до  $31,0 \pm 0,56$  г%,  $\gamma$ -глобулинов – до  $14,0 \pm 0,37$  г%, а также магния и хлоридов в составе сывороточных белков. Возрастает активность щелочной и кислой фосфатаз, что свидетельствует об активности обмена веществ, которая указывает на интоксикацию организма.

4. При поражении поросят криптоспориidioзом отмечают существенные изменения в окислительно-восстановительных процессах, которые характеризуются более низким уровнем гемоглобина (до  $8,8 \pm 0,95$  мг%). Каталазная активность у экспериментально зараженных животных снижалась – до  $5,83 \pm 0,20$  мг  $H_2O_2$ , у спонтанно инвазированных – до  $4,33 \pm 0,50$  мг  $H_2O_2$ , а уровень восстановленного глутатиона – до  $19,90 \pm 1,04$  и  $23,25 \pm 1,78$  мг% соответственно. Содержание окисленной фракции глутатиона в обеих группах повышалось.

5. У больных криптоспориidioзом поросят содержание сахара в крови при экспериментальном заражении снижается до  $71,50 \pm 1,10$  мг%, а при спонтанном – до  $58,10 \pm 1,64$  мг%, уровень пировиноградной кислоты в обеих группах увеличивается, что свидетельствует о нарушении нормального течения углеводного обмена.



6. Патоморфогенез у поросят при экспериментальном и спонтанном криптоспоридиозе связан с этапами формирования иммунной системы. Патоморфологические изменения характеризуются атрофией ворсинок эпителия слизистой оболочки тонких кишок, наличием паразитов, в последующем десквамацией эпителия, выраженной гиперемией сосудов, кровоизлияниями, резким увеличением числа паразитов, обусловленным аутоинвазией.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Гистоморфологические показатели в органах отражают механизмы патологического процесса и используются для прижизненной и дифференциальной диагностики желудочно-кишечных заболеваний у поросят, а также в научно-исследовательской работе в области протозоологии.

2. Результаты диссертационной работы использованы в учебном процессе со студентами специальности «Ветеринария» Мордовского университета.

3. Результаты изучения сроков заражения поросят с учетом биохимического состава сыворотки крови являются основой для научно-обоснованного проведения лечебных мероприятий при желудочно-кишечных заболеваниях поросят.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Криптоспоридиоз (биологические свойства, патогенез, диагностика): метод. рекомендации / В. А. Васильева, А. И. Кандаев, В. Г. Денисов, Т. Б. Мусаткина [и др.]. – Саранск, 2001. – 13 с.

2. Васильева, В. А. Этиология криптоспоридиоза поросят / В. А. Васильева, В. П. Родина, Т. Б. Мусаткина, // Ресурсосберегающие экологически безопасные технологии получения с.-х. продукции: материалы V международной науч. практ. конф. – Саранск, 2009. – С. 360 – 361.

3. Васильева, В. А. Показатели окислительно-восстановительных процессов при криптоспоридиозе поросят / В. А. Васильева, Т. Б. Мусаткина // Успехи соврем. естествознания. – 2009. – № 5. – С. 133 – 135.

4. Васильева, В. А. Влияние загрязнения природной среды на заболеваемость человека и животных криптоспоридиозом / В. А. Васильева, Т. Б. Мусаткина // Успехи соврем. естествознания». – 2009. № 7. – С. 145 – 146.

5. Васильева, В. А. Патоморфология органов поросят, вызванная криптоспоридиями / В. А. Васильева, Т. Б. Мусаткина // Тр. Кубан. гос. аграр. ун-та. – Краснодар, 2009. № 1, ч. 2. – С. 17 – 18.

6. Васильева, В. А. Влияние криптоспоридий на биохимические показатели сыворотки крови поросят / В. А. Васильева, Т. Б. Мусаткина // Тр. Кубан. гос. аграр. ун-та. – Краснодар, 2009. № 1, ч. 2. – С. 259 – 260.

Подписано в печать 22.10.09. Объем 1,0 п. л.  
Тираж 100 экз. Заказ № 1405.  
Типография Издательства Мордовского университета  
430005, г. Саранск, ул. Советская, 24