

УДК 619:616.99

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ КРИПТОСПОРИДИОЗЕ У ЖИВОТНЫХ

Кулясов П.А., Васильева В.А., Таирова Р.М., Мусаткина Т.Б.

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»,
Саранск, e-mail: agro-inst@adm.mrsu.ru

Многочисленными авторами установлено значительное распространение криптоспоридий среди животных всех возрастных групп, при этом какой-либо сезонной зависимости в выделении ооцист криптоспоридий животными не наблюдалось. Паразиты вызывают глубокие вторичные иммунодефициты, характеризующиеся нарушением естественной резистентности, клеточного иммунитета, дисбалансом иммунокомпетентных Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций в центральных и периферических лимфоидных органах. Установлено, что в тощей кишке криптоспоридии локализируются в виде очага на верхушках и боковых поверхностях ворсинок и микроворсинок эпителиального слоя. Больше их выявляется в подвздошной кишке, особенно в ее средней и концевой частях. Паразиты вызывают утолщение ворсинок и их атрофию. Наблюдается увеличение лимфатических узлов, селезенки, печени и легких. У лабораторных животных криптоспоридии приводят к уменьшению активности фосфатаз – основных ферментов пристеночного пищеварения, который приводит к массивной колонизации ворсинок и крипт эндогенными стадиями паразита.

Ключевые слова: криптоспориديоз, биохимия, патоморфология, кишечник, понос, атрофия, деформация, крипты

PATHOMORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES IN ANIMALS WITH CRYPTOSPORIDIOSIS

Kulyasov P.A., Vasileva V.A., Tairova R.M., Musatkina T.B.

Mordovia Ogarev State University, Saransk, e-mail: agro-inst@adm.mrsu.ru

Numerous authors found a significant spread of cryptosporidium among animals of all age groups while a seasonal pattern in the allocation of cryptosporidium oocysts in animals were not observed. Parasites cause deep secondary immunodeficiency characterized by breach of natural resistance, cellular immune, imbalance of immunocompetent T- and B-lymphocytes and their subpopulations in central and peripheral lymphoid organs. It has also been found that Cryptosporidium are localized in jejunum as a lesion on the top and side surfaces of villi and microvilli of the epithelial layer. More of the lesions are detected in ileum, especially in its middle and tail parts. Parasites cause villi thickening and its atrophy. An increase in lymph nodes, spleen, liver and lungs is also observed. In laboratory animals cryptosporidium cause a decrease phosphatases activity (the main enzymes of parietal digestion) which leads to a massive colonization of villi and crypts by Endogenous stages of the parasite.

Keywords: cryptosporidiosis, biochemistry, morbid anatomy, intestine, diarrhea, atrophy, deformation, crypts

Патогенез при криптоспоридиозе освещен в работах отечественных и зарубежных авторов. В нашей стране возбудитель этой болезни впервые выявлен у 25-дневных [11] и у 4-дневных телят. За рубежом криптоспоридиоз впервые наблюдали в 1971 году у 8-месячного теленка с явлениями хронического поноса, лизиса и атрофии ворсинок кишечника [20]. Позднее был описан криптоспоридиоз у двухнедельного поросенка с 10-дневной анорексией на фоне диареи, потери массы и общей слабости [18].

D. Taylor [23] приводит данные собственных исследований о действии неблагоприятных факторов, которым подвергаются поросята при отъеме, и основных заболеваниях, возникающих у них в послеотъемный период. Особое внимание обращено на энтериты, обусловленные различной микрофлорой. Автором указано, что с энтеритами могут быть связаны кокцидии и криптоспоридии.

S.E. Sanford [21] при исследовании посредством световой и электронной микро-

скопии пищеварительного тракта у поросят, подвергнутых убою с диагнозом криптоспоридиоза, обнаружил криптоспоридий в тощей, подвздошной, слепой и ободочной кишках, но больше всего – в микроворсинках подвздошной кишки.

Особенность криптоспоридий состоит в том, что они располагаются в экстрацитоплазматической паразитоформной вакуоли и приурочены к таким клеткам, которые на дистальном конце снабжены микроворсинками. Фаза присоединения к эпителиальным клеткам сопровождается повреждением микроворсинок. Тяжелая инфекция приводит к кратерообразным вдавлениям поверхностного эпителия, дегенеративным изменениям энтероцитов. В тяжелых случаях вследствие тотального поражения микроворсинок нарушается всасывание питательных веществ, развивается синдром мальабсорбции и профузная водянистая диарея. Замедляется всасывание воды и электролитов, возможно, повышается их

секреция из плазмы через кишечную стенку. Параллельно нарушается ферментативная деятельность кишечника [1].

Экспериментальным путем [17] было убедительно доказано, что у поросят, зараженных *E. scabra*, в клетках при отсутствии кокцидий в зоне ворсинок энтероцитов можно обнаружить гамонты криптоспоридий. Эти же исследователи показали, что инвазия *E. scabra* способствует внедрению и развитию бактерий, криптоспоридий и хламидий в энтероцитах.

Д.М. Оффiong [12] при вскрытии животных экспериментально зараженных *S. parvum*, обнаружил изменения в сычуге, который был заполнен сгустками и жидкой частью молока. Слизистая оболочка его бледно-розового цвета, а в фундальной части из-за гиперемии – красноватая. Вследствие очаговой гиперемии тощая кишка со стороны серозной оболочки выглядела пятнистой. Местами она спазмирована, без кишечного содержимого. Слизистая оболочка ее покрыта слизью, гиперемирована. Серозная оболочка подвздошной кишки светло-сиреневого цвета, слегка истончена. Содержимое ее вздуто газами, водянистое, серовато-желтого цвета. Слизистая оболочка отечная, гиперемирована, с полосчатыми кровоизлияниями.

Проведенными гистологическими исследованиями установлено, что в тощей кишке криптоспоридии локализуются в виде очага на верхушках и боковых поверхностях ворсинок и микроворсинок эпителиального слоя. Изредка их обнаруживали в глубине крипт. Количество паразитов в этой кишке невелико. Больше возбудителей выявлено в подвздошной кишке, особенно в ее средней и концевой частях. В местах скопления простейших организмов цилиндрические эпителиальные клетки были превращены в кубический эпителий с более интенсивно окрашенной цитоплазмой. Мембрана энтероцитов со стороны микроворсинок выглядит утолщенной и неровной. Границы пораженных клеток нечеткие. Пораженные ворсинки утолщены, инфильтрированы клетками. Выражен отек ретикулярной соединительной ткани ворсинок и собственного слоя слизистой оболочки.

Криптоспоридии выявлены и в криптах ободочной кишки. Пораженные крипты расширены, эпителиальные клетки утолщены. В полости крипт много десквамированных эпителиальных клеток и криптоспоридий. В местах повреждения и десквамации эпителиальных клеток единичные криптоспоридии обнаруживаются и в ретикулярной соединительной ткани.

Н.В. Свежова [13] установила экспериментальным путем на крысках, зараженных *S. parvum*, необычную экстрацитоплазматическую локализацию возбудителя в компартменте щеточной каемки энтероцита кишечника и симптомы, вызываемые этим паразитом (профузная диарея), что наводит на мысль о возможности уменьшения паразитом активности фосфатаз – основных ферментов пристеночного пищеварения в зараженных клетках. На модели экспериментально зараженных крыс–сосунков светооптически удалось показать, что паразитирование *S. parvum* снижает активность щелочной и полностью подавляет активность кислой фосфатазы. При этом активность щелочной фосфатазы, хоть и в ослабленном виде, удалось выявить даже на зараженных клетках кишечника. Автор предполагает, что сам паразит, а возможно, и индуцированная паразитом структура клетки хозяина (*dense band*) препятствуют латеральному перемещению по мембранам ворсинок, образующих экстрацитоплазматическую паразитоформную вакуоль, таких мембран связанных ферментов гликокаликса, как кислая и щелочная фосфатаза.

Т.В. Бейер [2] экспериментальным путем доказала, что у животных, зараженных ооцистами *S. parvum* в дозе 20 000 на одну голову наблюдалась массивная колонизация ворсинок и крипт эндогенными стадиями паразита. Наиболее сильно зараженным обычно оказывался дистальный отдел тонкой (подвздошной) кишки на расстоянии 2,7 и 14 см от червеобразного отростка, т.е. примерно в 35–37 см от желудка, при общей длине тонкой кишки у 14–20-дневных крыс 40–42 см. Локализация криптоспоридий ограничивалась зоной щеточной каемки энтероцитов.

И.И. Бочкарев [3] при экспериментальном и спонтанном криптоспоридиозе основные патологоанатомические изменения отмечал в кишечном тракте. Наблюдалось развитие катарального воспаления от желудка до прямой кишки. На всем протяжении серозная оболочка была гиперемирована. Слизистая оболочка подвздошной кишки с многочисленными кровоизлияниями и местами с изъязвлениями. В некоторых случаях наиболее сильное поражение отмечалось в тощей кишке. В микроскопических срезах наблюдались характерное изменение ворсинок, их атрофия. Установлена прямая зависимость между тяжестью болезни и степенью пораженности кишечника криптоспоридиями.

Ряд авторов [5, 8] при вскрытии павших и убитых спонтанно и экспериментально зараженных поросят наблюдали увеличение

лимфатических узлов, селезенки, печени, сердца и легких. Слизистая оболочка подвздошной кишки была с многочисленными кровоизлияниями. При патогистологическом исследовании они установили, что ворсинки деформированы, в их апикальной части нередко обнаруживаются явления десквамации эпителия. Видны ооцисты и шизонты *S. parvum* в ворсинках кишечника, мерозоиты в межворсинчатых пространствах и спорозоиты. В печени, почках, миокарде выявлялись дистрофические изменения. В лимфатических узлах отмечалась десквамация синусов, в селезенке – опустошение фолликулов, их своеобразное разрыхление, а в легких – утолщение межальвеолярных стенок.

С.И. Калужный [7], проведя изучение некоторых параметров иммунного статуса и естественной резистентности при криптоспориозе поросят начиная с 20–30-дневного возраста, а затем через 10, 20, 30, 45 и 60 дней от начала опыта, установил, что у зараженных поросят значительно понижены факторы естественной резистентности. Так, лизоцимная и комплементарная активность к началу опыта уступали контролю соответственно на 3,9 и 3,7%, а к концу – на 15,5%. Активность фагоцитов крови инвазированных поросят уступала ее уровню у здоровых и к началу опыта была ниже на 15,4%, а к концу – опыта на 42,5%. В селезенке к началу исследований количество Т-лимфоцитов уступало контрольным значениям на 8,9%, В-лимфоцитов – на 11,6%, к 10, 20, 30, 45 и 60 дням – соответственно на 11,7; 16,9; 22,5; 25,5 и 26,3%. В тимусе зараженных поросят к началу опыта, а затем через 10, 20, 30, 45 и 60 дней содержание Т-лимфоцитов было ниже уровня контроля соответственно на 155,4 млн и 416,3 млн орган.

Автор пришел к заключению, что криптоспориоз вызывает глубокие вторичные иммунодефициты, характеризующиеся нарушением естественной резистентности, клеточного иммунитета, дисбалансом иммунокомпетентных Т- и В-лимфоцитов и их субпопуляций в центральных и периферических лимфоидных органах.

В целом у млекопитающих криптоспориоз поражает главным образом кишечник, а случаи паразитирования их в других органах единичны. Так, у поросят развитие криптоспориоза может происходить не только в кишечнике [19], но и в трахее [22], конъюнктиве глаза [16], а также в желчном пузыре [15].

Многообразны поражения внутренних органов и тканей при криптоспориозе птиц. У них, кроме эпителия тонкой кишки, поражаются слизистые оболочки фабрициевой сумки, слепые отростки кишок и очень часто дыхательные пути, конъюнктивы

глаза, носовая полость, слюнные железы и почки.

Т.Б. Мусаткина и В.А. Васильева [10], проведя ряд исследований, выявили значительное распространение криптоспориоза у свиней всех возрастных групп, при этом какой-либо сезонной зависимости в выделении ооцист животными не наблюдалось. Все отмеченные различия зараженности криптоспориозом были связаны с условиями содержания и кормления новорожденных. Ранее высказывалось мнение, что свиноматки не могут быть источником заражения поросят криптоспориозом, так как к зрелому возрасту у них прекращается выделение ооцист. Авторы установили, что животные и во взрослом состоянии выделяют ооцисты криптоспориоза. Именно взрослые животные – носители ооцист и являются источником заражения новорожденных.

В результате проведенных исследований Н.С. Малахов и В.А. Васильева [9] установили, что под влиянием криптоспориозной инвазии при экспериментальном и спонтанном заражении в организме поросят происходят значительные морфологические изменения: увеличивается количество лейкоцитов, уменьшается содержание эритроцитов, уровень гемоглобина, а СОЭ колеблется от 1,9 до 2,7 мм/ч. Белковый состав сыворотки крови характеризуется уменьшением количества общего белка, постепенным снижением уровня альбуминов, γ -глобулинов. Возрастает активность щелочной и кислой фосфатаз, что свидетельствует об активности обмена веществ, которая указывает на интоксикацию организма. Наблюдаются существенные изменения в окислительно-восстановительных процессах, снижается содержание сахара, увеличивается уровень пировиноградной кислоты, что свидетельствует о нарушении углеводного обмена.

В.А. Васильева с соавторами [4, 6], в результате исследований выявили, что криптоспориоз вызывает резкие структурно-функциональные отклонения в желудочно-кишечном тракте. Изменения наблюдаются чаще в подвздошной кишке и сопровождаются многочисленными кровоизлияниями и изъязвлениями. На гистологических и электронно-микроскопических срезах наблюдаются атрофия ворсинок, эпителия слизистой оболочки тонких кишок, десквамация эпителия, выраженная гиперемия сосудов и кровоизлияния, мелкие очаги некроза, сопровождаемые изменением морфофункционального анализа крови, белкового состава сыворотки крови, окислительно-восстановительных процессов и способствующие увеличению

количества щелочной и кислой фосфатаз. Эти изменения приводят к возникновению глубокого вторичного иммунодефицита, характеризующегося нарушением естественной резистентности, клеточного иммунитета, дисбалансом иммунокомпетентных Т- и В-лимфоцитов.

В опытах на телятах в возрасте 9–35 суток спонтанно инвазированных криптоспоридиями [14], изучалась динамика циркулирующих иммунных комплексов и иммуноглобулинов G, M, A в развитии патологического процесса. У зараженных телят отмечали снижение содержания иммуноглобулинов G на 23,1%, повышение уровня иммуноглобулинов A на 55,7% и увеличение циркулирующих иммунных комплексов в 2,38 раза по сравнению с показателями животных контрольной группы, что свидетельствует о наличии специфического взаимодействия антиген – антигено и уменьшении активности гуморального звена иммунной системы. Инвазия, вызванная криптоспоридиями, приводит к патофизиологическим изменениям в гуморальной иммунной системе телят, что проявляется снижением уровня иммуноглобулина G, повышением концентрации иммуноглобулина A и циркулирующих иммунных комплексов.

Выводы

Криптоспоридиоз сельскохозяйственных животных является опасным зооантропонозом, при котором происходит значительное снижение естественной резистентности животных, приводящее к существенному расстройству желудочно-кишечного тракта и сопровождающееся общей атрофией, снижением тургора тканей, уменьшением ферментативной активности, сильной колонизацией слизистой тонкого кишечника эндогенными стадиями *C. parvum*.

Возрастает активность щелочной и кислой фосфатаз, что свидетельствует об активности обмена веществ, которая указывает на интоксикацию организма. Наблюдаются существенные изменения в окислительно-восстановительных процессах. Происходит снижение содержания сахара, увеличение уровня пировиноградной кислоты, что свидетельствует о нарушении углеводного обмена.

Список литературы

- Бейер Т.В. Жизненный цикл криптоспоридий // Ветеринария. – 1987. – № 6. – С. 43–46.
- Бейер Т.В. Новое в изучении возбудителя криптоспоридиоза (*Cryptosporidium*, Sporozoa, Apicomplexa) // Вестн. ветеринарии [Ставрополь]. – 1998. – № 1. – С. 48–52.
- Бочкарев И.И. Криптоспоридиоз: эпизоотология, симптомокомплекс болезни, ультраструктура *C. parvum*. Особенности развития хозяин – паразит – клетка – эмбрион, принципы лечения и профилактики: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – СПб., 1996. – 39 с.
- Васильева В.А. Клинико-биохимические показатели патологического процесса в организме животных при криптоспоридиозе / В.А. Васильева, П.А. Кулясов, Ю.Е. Курочкина // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 6 (5). – С. 942–945.
- Васильева В.А. Криптоспоридиоз и эзофагостомоз свиней при моноинвазиях и паразитоценозе: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – М., 1998. – 42 с.
- Васильева В.А. Патоморфология органов поросят, вызванная криптоспоридиями / В.А. Васильева, Т.Б. Мусаткина // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2009. – № 1 (ч.2.). – С. 17–18.
- Каложный С.И. Микробиологическое, иммунологическое и биохимическое обоснование комплексной терапии при криптоспоридиозе поросят: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – Саратов, 2011. – 42 с.
- Колмыкова Е.В. Патоморфологические изменения при криптоспоридиозе поросят: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Саранск, 2000. – 16 с.
- Малахов Н.С. Биохимический состав сыворотки крови поросят при экспериментальном и спонтанном криптоспоридиозе / Н.С. Малахов, В.А. Васильева // Российский паразитологический журнал. – 2014. – № 4 (30). – С. 64–69.
- Мусаткина Т.Б. Влияние экологических условий на распространение и сохранность возбудителя криптоспоридиоза свиней во внешней среде / Т.Б. Мусаткина, В.А. Васильева // Вестник Брянского государственного университета. – 2012. – № 4. – С. 139–141.
- Никитин В.Ф. Ассоциация гельминтов у телят в промышленных комплексах / В.Ф. Никитин, И.Павласек // II Всесоюзный съезд паразитологов: тез. докл. – Киев, 1983. – С. 236.
- Оффiong Д.М. Эпизоотология и диагностика криптоспоридиоза телят: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – М., 1992. – 21 с.
- Свежова Н.В. Влияние кишечной кокцидии *Cryptosporidium parvum* на активность фосфатаз в щеточной кайме зараженных энтероцитов крысят // VI Всероссийский симпозиум по популяционной биологии паразитов: тез. докл. Борок Ярослав. обл., 23–25 января 1995 г. – М., 1995. – С. 84.
- Якубовский М.В. Показатели гуморального иммунитета при криптоспоридиозе / М.В. Якубовский, О.П. Пепеляева // Российский паразитологический журнал. – 2014. – № 4 (30). – С. 44–47.
- Acedo C. A. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in extra-intestinal tissues of sheep and pigs / C.A. Acedo, G. Quflez // Vet. Parasitol. – 1995. – Vol. 59, № 3–4. – P. 201–205.
- Heine J. Enteric lesions and diarrhea in gnotobiotic calves monoinfected with *Cryptosporidium* species / J. Heine, J. Pohlenz, H. Moon [et al.] // J. Infect. Dis. – 1984. – Vol. 150, no. 5. – P. 768–775.
- Koudela B. Concurrent infection of enterocytes with *Eimeria scabra* and other enteropathogens in Swine / B. Koude-la, J. Vitovec, J. Sterba // Veter. Parasitol. – 1990. – Vol. 35, № 1/2. – P. 71–77.
- Meuten D. Cryptosporidiosis in calf / D. Meuten, H.V. Kruiningen, D. Lein // J. Amer. Vet. Med. Ass. – 1975. – Vol. 165, № 10. – P. 917.
- Nooruddin M. Role of cryptosporidium in calf diarrhoea / M. Nooruddin, D. Sarma // Liestock. Advisek. – 1987. – Vol. 12, № 7. – P. 49–51.
- Panciera R. Cryptosporidial infection in a caef / R. Panciera, R. Thomassen, F. Ganner // Vet. Pathol. – 1971. – Vol. 8. – P. 479–484.
- Sanford S.E. Enteric cryptosporidial infection in pigs: 1984 cases (1981–1985) // J. Am. Veter. Med. Ass. – 1987. – Vol. 190. – P. 695–698.
- Schloemer L. Die ubertragung von *Cryptosporidium* spec. des Kalbes auf Nouse, Hamster und Meerschweinchen sowie Schweine Schafe und Ziegen: Diss. ... Munchen, 1982. 44 p.
- Taylor D. Post-weaning problems a view from the laboratory // Pig Farmg. – 1985. – Vol. 33, № 10. – P. 65–69.