

**БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПОРОСЯТ  
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ И СПОНТАННОМ  
КРИПТОСПОРИДИОЗЕ**

**Н. С. МАЛАХОВ**

кандидат ветеринарных наук

**В. А. ВАСИЛЬЕВА**

доктор ветеринарных наук

*Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева  
Россия, 430904, г. Саранск, р. п. Ялга, ул. Российская, 27,  
e-mail: agro-inst @adm. mrsu. ru*

**Изучены вопросы патогенеза при криптоспори-  
озе поросят. Под влиянием криптоспори-  
озной инвазии при экспериментальном и спонтанном заражении  
в организме поросят происходят значительные мор-  
фологические изменения: увеличивается количество  
лейкоцитов, уменьшается содержание эритроцитов,  
уровень гемоглобина, а СОЭ колеблется от 1,9 до 2,7  
мм/ч. Белковый состав сыворотки крови характеризу-  
ется уменьшением количества общего белка, посте-  
пленным снижением уровня альбуминов,  $\gamma$ -глобулинов.  
Возрастает активность щелочной и кислой фосфатаз,  
что свидетельствует об активности обмена веществ,  
которая указывает на интоксикацию организма.  
Наблюдаются существенные изменения в окислитель-  
но-восстановительных процессах. Происходит сниже-  
ние содержания сахара, увеличение уровня пировино-  
градной кислоты, что свидетельствует о нарушении  
углеводного обмена.**

Ключевые слова: поросята, криптоспориоз, биохимия, ооцисты, кровь, сыворотка, Мордовия, загрязнение, среда.

Территория Республики Мордовия характеризуется высоким техногенным загрязнением окружающей среды. Ухудшение радиационно-экологической обстановки привело к возрастанию заболеваемости различными болезнями, в том числе протозойными. К числу малоизученных паразитов животных относятся криптоспоридии. Возбудитель криптоспориоза относится к кокцидиям рода *Cryptosporidium* [9] (семейство *Cryptosporidiidae*, подотряд *Eimerina*, отряд *Eucoccidiida*, подкласс *Coccidia*, класс *Protozoa*, тип *Apicomplexa*). Установлено, что криптоспориозом обычно заболевают животные с ослабленным иммунитетом [1–3, 6–8, 10].

Ветеринарной наукой и практикой достигнуты определенные успехи в изучении этиологии, выявлены основные пути передачи инвазии, вызванной этими

простейшими, установлены и раскрыты особенности развития, определен ряд экологических факторов, но слабой стороной остаются вопросы патогенеза.

Исходя из этого, цель нашей работы – изучить характер изменений некоторых показателей крови поросят при криптоспориidioзе.

### **Материалы и методы**

Материал для экспериментального заражения получали от инвазированных свиной из свиноводческих хозяйств Республики Мордовия. Выделение ооцист из фекалий 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 двуххромовокислого 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. При спонтанном исследовании также было 30 голов. Животные были разделены по принципу аналогов на опытные группы по 25 голов и контрольные – по 5 голов. Для диагностики во время эксперимента использовали метод окраски мазков из фекалий животных и соскобов со слизистой оболочки кишечника подвергнутых убою поросят по Цилю–Нильсену или Романовскому–Гимзе. Копроскопию до появления первых ооцист в фекалиях проводили через сутки, а затем ежедневно. Спустя 5 сут после заражения ооцисты криптоспоридий выявляли в фекалиях.

При выполнении работы использовали следующие методы: подсчет форменных элементов крови осуществляли общепринятыми методами в камере Горяева [4, 5]; общий белок, белковые фракции, активность щелочной и кислой фосфатаз, а также активность аминотрансфераз (АсАТ, АлАТ) определяли с помощью биохимического анализатора «Hymalizer 2000»; содержание гемоглобина, каталазную активность крови, количество глутатиона, щелочной резерв крови, пировиноградную кислоту, содержание сахара определяли общепринятыми методами.

### **Результаты и обсуждение**

У животных, экспериментально инвазированных *Cryptosporidium parvum*, эритроцитов было в два раза меньше, чем в контрольной группе. К началу массового выделения ооцист – на 8-е и 12-е сутки наблюдали снижение их числа 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 оно приближалось 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> против  $5,71 \pm 0,19$  млн/мм<sup>3</sup> у контрольных животных ( $5,05 \pm 0,07$  млн/мм<sup>3</sup>) в начале опыта. Разница в количестве эритроцитов в крови животных контрольных и опытных групп при статистической обработке оказалась достоверной. Самое низкое содержание лейкоцитов было у поросят контрольной группы –  $8,65 \pm 0,01$  тыс./мм<sup>3</sup>, а на 8-е сутки после заражения оно увеличивалось до  $13,80 \pm 0,93$  тыс./мм<sup>3</sup> и в последующем до 14 сут держалось на уровне  $13,60 \pm 0,70$  тыс./мм<sup>3</sup>. Скорость оседания эритроцитов колебалась с 1,9 до 2,7 мм/ч.

У поросят при экспериментальном заражении криптоспоридиями отме-

чали 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, разрушение энтероцитов, замещение погибших крипт скоплениями эозинофилов, лимфоцитов. Это объясняется циклом развития криптоспоридий. Все циклы происходят в организме одного и того же хозяина и завершаются формированием двух типов ооцист. Ооцисты первого типа, составляющие большинство, имеют толстую стенку и выводятся с фекалиями. Они устойчивы к действию неблагоприятных факторов, способны длительно сохранять жизнеспособность и инвазионность во внешней среде (от 4 мес до 1 года). Ооцисты, имеющие тонкую стенку, освобождаются от спорозоитов в кишечнике, вызывая аутоинвазию, чем объясняется длительное сохранение паразита в организме хозяина даже при отсутствии повторных заражений. Все это приводит к нарушению пищеварения, возникновению аллергических процессов, связанных с развитием патологии в организме зараженных животных.

По мере развития болезни отмечены 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%. На 8-е сутки этот показатель составлял  $31,9 \pm 0,56$  г% против  $35,4 \pm 0,58$  г% в контроле.

Показатели  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулинов в динамике криптоспоридиозного процесса существенно не изменялись. 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, его кратности, количества и качества полученного молозива, абсорбционной способности слизистой оболочки тонкого отдела кишечника, сезонных и стрессовых факторов, гормонального статуса новорожденных, генетических факторов.

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%, в момент массового выделения ооцист криптоспоридий, т. е. на 8-е сутки, –  $18,5 \pm 0,43$ , на 12-е сутки –  $16,8 \pm 0,61$  г%. 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%.

Повышение активности того или иного фермента является весьма ранним диагностическим тестом. В наших исследованиях первые изменения в опытной группе появились на третьи 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  $176 \pm 0,07$  мкмоль/л·ч, а кислой фосфатазы – с  $49,02 \pm 0,09$  до  $150,20 \pm 1,06$  мкмоль/л·ч. На 8-е сутки их уровень составил соответственно  $512 \pm 0,04$  и  $382 \pm 0,08$  мкмоль/л·ч, а на 10-е отмечено значительное уменьшение содержания этих ферментов – соответственно до  $370,5 \pm 0,05$  и  $264,4 \pm 1,05$  мкмоль/л·ч. На 12-е

сутки их уровень снизился еще больше – соответственно до  $222,6 \pm 0,06$  и  $190,3 \pm 0,06$  мкмоль/л·ч.

Изменения аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы начали наблюдать на 5-е сутки после заражения. Они характеризовались увеличением количества АлАТ с  $46,5 \pm 0,05$  до  $70,8 \pm 0,04$  мкмоль/л·ч, а АсАТ – с  $315,0 \pm 0,05$  до  $394,3 \pm 0,04$  мкмоль/л·ч на 5-е сутки исследования. На 8-е сутки АлАТ составил  $97,0 \pm 0,03$  мкмоль/л·ч в первой опытной группе и  $89,6 \pm 0,04$  мкмоль/л·ч – во второй, а АсАТ – соответственно  $421,5 \pm 0,04$  и  $472,1 \pm 0,03$  мкмоль/л·ч ( $P < 0,001$ ).

У инвазированных поросят происходило значительное изменение активности каталазы в крови, наблюдавшееся в течение всей болезни. У экспериментально зараженных поросят величина каталазной активности снижалась до  $5,83 \pm 0,20$  мг  $H_2O_2$ , 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 криптоспоридиями, имело тенденцию к снижению. На 4-е сутки после экспериментального заражения его количество составляло  $29,93 \pm 1,05$  мг%, на 8-е сутки –  $19,9 \pm 1,04$ , на 12-е –  $29,65 \pm 0,76$  и на 14-е –  $29,16 \pm 0,66$  мг%, при спонтанной инвазии оно снижалось с  $25,42 \pm 1,31$  мг% на 4-е сутки до  $23,25 \pm 1,78$  мг% на 8-е. Восстановленный глутатион в крови поросят при экспериментальном криптоспоридиозе понижался до  $21,53 \pm 0,35$  мг%, а при спонтанном – до  $18,17 \pm 1,21$  мг% по сравнению с контролем. У экспериментально инвазированных животных его уровень увеличивался с  $7,00 \pm 0,22$  до  $8,22 \pm 0,31$  мг%, у спонтанно инвазированных – с  $4,80 \pm 0,22$  до  $7,52 \pm 0,58$  мг% ( $P < 0,05$ ).

Изменение резервной щелочности крови у поросят в динамике криптоспоридиозного процесса свидетельствует о нарушении кислотно-щелочного равновесия. Резервная щелочность в обоих опытах снижалась: при экспериментальном криптоспоридиозе – до  $31,9 \pm 1,10$  %  $CO_2$ , при спонтанном – до  $20,73 \pm 1,02$  %  $CO_2$  ( $P < 0,05$ ).

Содержание сахара в крови с 8-х по 14-е сутки при экспериментальном заражении снижалось с  $74,9 \pm 1,88$  до  $71,5 \pm 1,10$  мг%, а при спонтанном – с  $74,7 \pm 2,91$  до  $58,1 \pm 1,64$  мг% ( $P < 0,05$ ). Это объясняется тем, что из крови адсорбируются глюкоза и другие моносахариды, необходимые для поддержания нормальной жизнедеятельности организма. Уровень пировиноградной кислоты в крови экспериментально и спонтанно зараженных поросят был выше, чем у животных контрольных групп, и составлял  $2,40 \pm 0,07$  и  $2,91 \pm 0,09$  мг% соответственно.

Таким образом, под влиянием криптоспоридиозной 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,  $\gamma$ -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. Происходит снижение содержания сахара, увеличение уровня пировиноградной кислоты, что свидетельствует о нарушении углеводного обмена.

### *Литература*

1. *Bejer, T. V.* Novoe v izuchenii vzbuditelja kriptosporidioza (Cryptosporidium, Sporozoa, Apicomplexa) / T. V. Bejer // Vestn. veterinarii. – Stavropol', 1998. – № 1. – S. 48–52.
2. *Vasil'eva, V. A.* Vlijanie antropogennyh faktorov na rasprostranenie kriptosporidioza zhivotnyh / V. A. Vasil'eva, P. A. Kuljasov // Uspehi sovremennogo estestvoznaniya. – M., 2013. – № 4. – S.154.
3. *Vasil'eva, V. A.* Osobennosti rasprostraneniya kriptosporidioza u zhivotnyh v uslovijah Respubliki Mordovija / V. A. Vasil'eva, P. A. Kuljasov // Mezhdunar. zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. – M., 2014. – № 2–2. – S. 155–156.
4. *Kondrahin, I. P.* Klinicheskaja laboratornaja diagnostika v veterinarii / I. P. Kondrahin, N. V. Kurilov, G. I. Malahov i dr. – M., 1985. – 287 s.
5. *Kondrahin, I. P.* Metody veterinarnoj klinicheskaj laboratornoj diagnostiki / I. P. Kondrahin. – M., 2004. – 520 s.
6. *Musatkina, T. B.* Biohimicheskie pokazateli krovi i patomorfologija pri kriptosporidioze porosjat: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk. – Saransk, 2009. – 17 s.
7. *Reshetnikova, T. I.* Biohimicheskie i patomorfologicheskie izmeneniya pri kriptosporidioze porosjat / T. I. Reshetnikova, V. A. Vasil'eva, N. S. Malahov // Praktik. – 2005. – № 1–2. – S. 66–67.
8. *Fayer, R., Ungar, B. L.* Cryptosporidium spp. and cryptosporidiosis / R. Fayer, B. L. Ungar // Microbiol. Revs. – 1986. – V. 50. – P. 458–483.
9. *Tizzer, E. E.* An extracellular coccidium Cryptosporidium (gen. et sp. nov) of the gastritis glands of the common mouse / E. E. Tizzer // J. Med. Res. – 1910. – V. 23. – P. 487–509.
10. *Wyatt, C. R., Brackett, E.* Yoan, terryman hance. Characterization of during cryptosporidiosis / C. R. Wyatt, E. Brackett // Y. Eukaryot Microbiol. – 1996. – V. 43, № 5. – P. 66.

#### **Chemical composition of blood serum of pigs at experimental and spontaneous cryptosporidiosis**

**N. S. Malachov**

**PhD in veterinary sciences**

**V. A. Vasilyeva**

**doctor of veterinary sciences**

*Mordovia State University named after N. P. Ogarev, 430904, Republic of Mordovia, Saransk, Yalga, 27 Rossiyskaya st., e-mail: agro-inst @adm. mrsu. ru*

The issues of pathogenesis of cryptosporidiosis in pigs are studied. The cryptosporidiosis infection at experimental and spontaneous infection may lead to significant morphological changes in the pigs body: the number of leukocytes is increased, hemoglobin concentration and the number of erythrocytes are decreased, the blood sedimentation rate (ESR) varies from 1,9 to 2,7 mm/h. The protein composition of blood serum is marked by decrease in total amount of protein as well as a gradual fall of albumin and gammaglobulin levels. The activity of alkaline and acid phosphatase is elevated which proves the metabolic activity pointing at the body intoxication. Significant changes in redox processes are being observed. Blood sugar is going down and blood pyroracemic acid is increasing which testifies to disorders of carbohydrate metabolism.

Keywords: pigs, cryptosporidiosis, biochemistry, oocysts, blood, serum, Mordovia, pollution, environment.