

На правах рукописи

Сидоренко Карина Владимировна

**МОРФОЛОГИЯ ОРГАНОВ БРЮШНОЙ
ПОЛОСТИ В НОРМЕ И ПРИ ЭЙМЕРИОЗАХ У
КРОЛИКОВ**

06.02.01- диагностика болезней и терапия животных,
патология, онкология и морфология животных

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург–2022

Работа выполнена на кафедре биологии, экологии и гистологии
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины» (ФГБОУ ВО СПбГУВМ)

Научный руководитель – Мкртчян Маня Эдуардовна,

доктор ветеринарных наук, доцент, заведующая
кафедрой биологии, экологии и гистологии
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный университет ветеринарной
медицины».

Официальные оппоненты: Зирук Ирина Владимировна, доктор
ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ ВО
«Саратовский государственный аграрный
университет имени Н.И. Вавилова», профессор
кафедры морфологии, патологии животных и
биологии;

Веремеева Светлана Александровна,
кандидат ветеринарных наук, доцент, ФГБОУ
ВО «Государственный аграрный университет
Северного Зауралья», доцент кафедры анатомии
и физиологии.

**Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный
аграрный университет».**

Защита состоится 17 марта 2022 г. в 11.00 часов на заседании
диссертационного совета Д 220.059.05 на базе Федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул.
Черниговская, д. 5, тел/факс 8 (812) 388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО
СПбГУВМ по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, и на
официальном сайте <http://spbguvm.ru>

Автореферат размещен на сайтах: ВАК при Министерстве науки и
высшего образования Российской Федерации: <https://vak.minobrnauki.gov.ru>
и ФГБОУ ВО СПбГУВМ: <http://spbguvm.ru>
_____.

Автореферат разослан « _____ **» 20** ____ **г.**

Ученый секретарь
диссертационного совета

Кузнецова
Татьяна Шамильевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Основной задачей высокотехнологичного и рентабельного животноводства на промышленной основе является обеспечение населения качественной продукцией в необходимом объёме. Для выполнения этой задачи работники сельскохозяйственной отрасли тщательно изучают различные характеристики используемых животных, ведь только глубокое понимание особенностей морфологии и физиологии способно выявить условия, обеспечивающие достижение максимального результата за наиболее короткий срок, не только для каждого вида животных, но и для отдельных пород (А. А. Белов, 2016; Н. Б. Валеев, 1975; и др.).

Примером достаточно неприхотливых, но при этом продуктивных животных, служат домашние кролики.

Являясь псевдуроминантами и питаясь исключительно растительной пищей, кролики достигают массы товарной тушки, в среднем, к 3-м месяцам, что ускоряет производство крольчатины и снижает затраты на их содержание и кормление (И. Ю. Дель, 2014; А. Т. Ергин, 1990).

Выбранные нами породы кроликов являются одними из наиболее распространённых в Ленинградской области, так как просты в содержании и обладают рядом преимуществ. Исследование особенностей морфологии органов брюшной полости указанных животных является очень важным, поскольку кролики пород калифорния и советская шиншилла имеют широкое производственное значение.

Порода калифорния - это мясная бройлерная порода с высоким темпом роста, а кролики породы советская шиншилла более универсальные животные, которых можно использовать не только для производства мяса, но и шкур.

Особенности строения органов пищеварительной системы данных млекопитающих позволяют достаточно эффективно использовать корма и конвертировать их в основную продукцию кролиководства, а именно в мясо (А.Ф. Зиппер, 2007; В. Загоровская, 2015; и др.).

Гистоархитектоника кишечной стенки у кроликов имеет достаточно сложное строение, и представлена множеством тканевых и клеточных структур, находящихся в гармоничном взаимодействии и направленных на выполнение своей основной функции. Однако, зачастую, при несоблюдении санитарно-гигиенических условий, на территории кролиководческих хозяйств возникает эймериоз – широко распространённая паразитарная болезнь, влияющая на производственный потенциал инвазированных кроликов, за счёт высокой смертности, замедленного роста и снижения

конверсии кормов в продукцию, что приводит к ежегодным большим экономическим потерям в сельскохозяйственной отрасли. Кроме того, даже в субклинической форме это может привести к нарушению иммунитета кроликов, что открывает путь к развитию вторичных болезней, а также оказывает влияние на изменение уровня микроэлементов, играющих ключевую роль в ряде важнейших метаболических процессов в организме животных (G. Yin, 2016; и др.).

Эймерии, проникая в структуры эпителиальной пластинки тонкой кишки, наносят колоссальный ущерб тканям слизистой оболочки органа, препятствуя перевариванию и всасыванию питательных веществ из корма, не позволяя тем самым достигнуть максимальной продуктивности.

Для предотвращения возникновения эймериозов, возбудители которых локализируются в органах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), следует тщательно изучить его влияние на организм кроликов. Необходимо определить, какие структурные и функциональные изменения происходят в архитектонике поражённых органов в результате жизнедеятельности паразита, и как это отражается, в дальнейшем, на продуктивных качествах изучаемых животных (К. К. Мурзагулов, 2003).

Поэтому, на наш взгляд, изучение морфологических особенностей органов брюшной полости кроликов в норме и при эймериозах является очень актуальным.

Степень разработанности темы. Изучение морфологии органов ЖКТ играет важную роль для построения анатомо-физиологической основы для постановки правильного диагноза и понимания динамики развития многих болезней. Кроме того, такие знания позволяют определить возрастные особенности строения органов, дифференцировать возрастные изменения от патологических.

Пищеварительная система является одним из основных звеньев в процессе конвертации всех затраченных средств на содержание и кормление животного, поэтому любые нарушения процессов пищеварения способны нанести значительный ущерб продуктивности сельскохозяйственных животных. Исходя из этого, изучение влияния эймерий на состояние некоторых органов брюшной полости кроликов продемонстрирует важность изучения морфологических аспектов взаимодействия эймерий с организмом хозяина и позволит выявить нарушения, способные привести к неполноценной конверсии кормов и потере продуктивности.

Доля исследовательских работ, посвященных морфологическим особенностям тканевых изменений в органах при ассоциациях эймерий как в иностранной, так и отечественной научной литературе недостаточно.

Цель и задачи исследований. Цель исследований – изучить характерные особенности и микроструктурные изменения тканей и органов брюшной полости при эймериозах и определить устойчивость различных пород кроликов к заражению ассоциацией эймерий.

Данная цель достигается решением следующих задач:

1. Изучить микроструктурные изменения в органах брюшной полости кроликов при воздействии разных доз ассоциаций эймерий в различные сроки после заражения;
2. Определить наиболее эффективную методику окраски гистологических препаратов для выявления эндогенных стадий паразита в стенке кишечника кроликов;
3. Выявить основные морфометрические показатели тонкой и толстой кишок у кроликов пород калифорния, советская шиншилла и их гибрида в норме и при эймериозах;
4. Определить изменения продуктивности животных при заражении ассоциацией эймерий;
5. Установить степень резистентности исследованных пород кроликов в зависимости от интенсивности заражения эймериями;
6. Разработать программное обеспечение для определения видов эймерий по морфологическим признакам паразита.

Научная новизна. Впервые с помощью комплекса морфологических и клинических методов исследования изучена микроструктура органов брюшной полости в норме и при воздействии определённой ассоциацией эймерий на организм кроликов двух чистых пород и их гибрида при разных дозах заражения.

Проведен сравнительный анализ продуктивности животных пород калифорния, советская шиншилла и их гибрида в норме и при конкретных дозах заражения ассоциацией эймерий.

Впервые, осуществлена оценка эффективности гистологических методов окраски эндогенных стадий эймерий для обнаружения данных простейших в местах локализации паразита в организме.

На основании обобщения литературных сведений микроструктуры ооцист и результатов собственных исследований разработано программное обеспечение и спроектирована база данных «Parasites» для дифференцировки видов эймерий.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в результате эксперимента данные о морфологии органов брюшной полости в норме и при патологическом воздействии определённой ассоциации эймерий на кроликов позволяет выявить наиболее устойчивые породы животных.

Оценка проявившейся резистентности к заражению может стать основой для разведения более устойчивых к эймериозу пород кроликов и повысит рентабельность промышленной выработки крольчатины.

Методология и методы исследования. Методология исследований основана на анализе и синтезе информации по проблеме патоморфологического влияния паразитов на организм кроликов, представленной в отечественных и зарубежных источниках литературы.

Для решения поставленных задач и выполнения научной работы нами применялись патологоанатомические, гистологические, паразитологические, гематологические и статистические методы исследования.

В ходе проведенных экспериментов был успешно осуществлен сравнительный анализ эффективности разных методов окраски гистологических препаратов.

При комплексной диагностике и изучении патоморфологии и патогенеза при эймериозах использованы современные и традиционные методы исследования, включающие: определение степени патогенного воздействия ассоциации эймерий на продуктивность животных, изучение микроструктурных изменений при экспериментальном заражении ассоциацией простейших, на основании исследований гистологии из различных органов, установления последовательности изменений клинических и биохимических показателей крови, биометрических данных, а также статистической обработки полученных результатов.

Положения, выносимые на защиту:

- Изучены макро- и микроструктурные изменения в органах брюшной полости кроликов в норме и при различных дозах заражения ооцистами эймерий;

- Наиболее эффективными методами окраски гистологических препаратов для обнаружения эндогенных стадий эймерий являются окраски альциановым синим с гематоксилином Карацци и толлуидиновым синим;

- Различные дозы индуцированной инвазии ассоциаций эймерий не влияют на степень развитости тонкой и толстой кишок кроликов изученных пород;

- При увеличении интенсивности инвазии живая масса, масса тушек и убойный выход крольчат постепенно снижаются;

- Наиболее устойчивыми к заражению эймериями, среди чистых пород, являются крольчата породы советская шиншилла.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается большим объемом проведенных исследований и использованием комплекса современных методов

исследования, проведенных на сертифицированном оборудовании с применением статистической обработки полученных данных в программе Past 3 и использованием критерия Манн-Уитни.

Апробация результатов научной работы проведена на 73-й Международной научной конференции молодых учёных и студентов СПбГАВМ (СПбГАВМ, 8-17 апреля 2019 г.); III Международном паразитологическом симпозиуме, посвящённом 100-летию кафедры паразитологии им. В.Я. Якимова (Санкт-Петербург, 18-20 декабря 2019 г.); Национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ (СПбГАВМ, 28-31 января 2020 г.); 74-й международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ, посвященной 75-летию Победы в Великой Отечественной войне (СПбГАВМ, 6-15 апреля 2020 г.); Национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ (СПбГУВМ, 25-29 января 2021 г.); XXIX Московском международном ветеринарном конгрессе (Москва, 31 марта-2 апреля 2021 г.); 75-ой международной конференции молодых ученых и студентов СПбГУВМ (СПбГУВМ, 5-9 апреля 2021 г.); Международной научно-практической конференции, посвященная 90-летию со дня рождения профессора Ю.Ф. Юдичева (г. Тюмень, 27-28 мая 2021 г.); Международной научно-практической конференции «Фундаментальные научные исследования и их прикладные аспекты в биотехнологиях и сельском хозяйстве» (г. Тюмень, 19-20 июля 2021 г).

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре «Ветеринария» технологического факультета ФГБОУ ВО Пензенского государственного аграрного университета, на факультете ветеринарной медицины по дисциплинам кафедры «Биология с основами экологии» и «Цитология, гистология и физиология», также в научно-исследовательской работе кафедры анатомии и физиологии ФГБОУ ВО Ижевской государственной сельскохозяйственной академии, на факультете ветеринарной медицины по дисциплинам кафедры «Морфология животных», «Гистология, цитология и эмбриология», «Патологическая анатомия» и в научно-исследовательской работе кафедры анатомии, патологической анатомии и гистологии ФГБОУ ВО Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана, на кафедре морфологии, физиологии, инфекционной и инвазионной патологии факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Белгородского государственного аграрного университета имени В. Я. Горина», на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО Санкт-Петербургского государственного университета

ветеринарной медицины, а также внедрены в крестьянско-фермерском хозяйстве (КФХ) «Нера» Волосовского района Ленинградской области.

Подана заявка на полезную модель «Способ исследования гистологических срезов кишечника для обнаружения эндогенных стадий эймерий» (№ 2020114270 от 07.04.2020).

Материалы диссертационной работы представлены на XXIX Московском международном ветеринарном конгрессе, а также на III Международном паразитологическом симпозиуме, посвящённому 100-летию кафедры паразитологии им. В. Я. Якимова, где награждена дипломом за второе место. По теме диссертационной работы в результате конкурсного отбора РФФИ, в качестве победителя «Конкурса на лучшие проекты фундаментальных научных исследований, выполняемые молодыми учеными, обучающимися в аспирантуре («Аспиранты»)», получен грант (№ 19-316-90059 от 04.09.2019 года).

Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 12 работ: в сборниках материалов национальной и международных конференций, центральных журналах и отдельных изданиях. Из них в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ для публикации основных результатов диссертации на соискание учёной степени доктора и кандидата наук – 2 работы; в изданиях международных баз цитирования, в том числе *Scopus* и *Web of Science* - 3; региональной печати – 7.

Благодарности. Выражаем искреннюю благодарность профессору, доктору биологических наук, Чумасову Евгению Ивановичу, за неоценимую помощь в освоении методик изготовления гистологических препаратов и интерпретации полученных данных.

Также, благодарим Сидоренко Романа Сергеевича, за техническую помощь в разработке программы для определения видов эймерий кроликов по морфологическим признакам.

Личный вклад. Диссертация представляет собой результат научной работы автора, проведенной в период с 2018–2021 гг. Автором самостоятельно была сформулирована цель, определены задачи, выстроен план проведения экспериментальных исследований по изучению морфологии органов брюшной полости в норме и при эймериозах у кроликов, самостоятельно проведен комплексный анализ полученных результатов, написаны статьи, составлены презентации и написан текст к выступлениям на конференциях. В статьях, опубликованных совместно с Мкртчян М. Э., Кузнецовым Ю. Е., Беловой Л. М., Гавриловой Н. А., Муромцевым А. Б., Климовой Е. С., Петровой М. С., Таймусовой Э. Н., Кайдаловой О. И.

основная часть работы выполнена соискателем. Соавторы не возражают против использования данных результатов. Личный вклад составляет 90%.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 154 страницах компьютерного текста, содержит 46 рисунков и 16 таблиц. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, практических предложений, рекомендаций и перспективы дальнейшей разработки темы, списка литературы и приложения. Список использованной литературы включает 218 источников, из них 108 - отечественных, 110 - иностранных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследования были проведены на базе кафедры биологии, экологии и гистологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины».

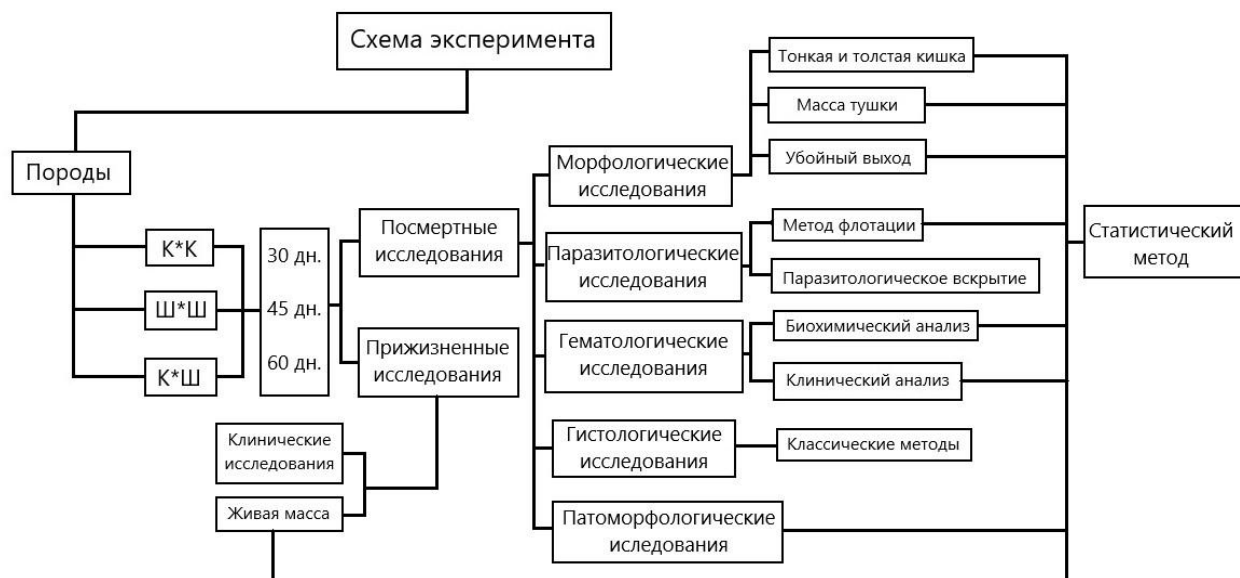


Рисунок 1 – Схема исследования.

Объектом исследования служили кролики породы *Californian*, *Soviet Chinchilla*, а также их гибриды в возрасте 30-ти, 45-ти и 60-ти дней. Родительское поголовье было приобретено в КФХ «Нера». В порядке проведения эксперимента были сформированы группы аналогов каждой возрастной группы крольчат по 6 голов: чистопородные (К*К), чистопородные (Ш*Ш), гибридные (Ш*К/К*Ш) в подопытных

(инвазированных) и контрольных (интактных) группах. Всего исследовано 216 голов подопытных животных.

Животные содержались в маточно-откормочной клетке "Промышленной Версии 2.0" в пристеночном исполнении, с бункерными кормушками для маточно-откормочных клеток и ниппельной системой поения.

Кролики получали корм линейки «Мистер кролик» ПК 90-1, производства Тосненского комбикормового завода.

Воду получали без ограничений.

Новорожденные крольчата подопытных групп были заражены в дозе 50 тыс., 100 тыс. и 200 тыс. ооцист на голову ассоциациями эймерий видов *E. perforans* и *E. irresidua*.

Для исследования патогенного воздействия данной ассоциации на организм кроликов, были учтены живая масса, убойная масса и убойный выход тушек при различных дозах заражения.

На 30-й, 45-й и 60-й день заражения был произведён убой животных, опытных и контрольной групп, патологоанатомическое вскрытие, морфометрия тонкой и толстой кишок, а также ветеринарно-санитарная оценка продуктов убоя (тушек). Был отобран материал для гистологического исследования, из тонкой и толстой кишок, мезентериальных лимфатических узлов, печени, селезенки.

Материалом для исследований служили содержимое кишок, кровь и её сыворотка, пробы органов для гистологических исследований.

Взвешивание крольчат производили с применением весов SUPRA BSS-4085 в первые сутки после рождения, а также на 30-й, 45-й и 60-й день инвазии, до и после убоя.

Паразитологические исследования проводились прижизненно и посмертно по общепринятой методике. Для обнаружения ооцист эймерий применялся флотационный метод (метод Фюллеборна) исследования кала или содержимого тонкой и толстой кишок.

Полное паразитологическое вскрытие отдельных органов осуществляли по К. И. Скрябину. Тонкие и толстые кишки вскрывали, отдельно исследовали содержимое каждого отдела.

Для определения интенсивности инвазии осуществляли подсчёт концентрации ооцист кокцидий. Также осуществляли линейные измерения тонкой и толстой кишок. Вначале тонкую и толстую кишку освобождали от брыжейки и жира, после чего расправляли и производились линейные измерения.

Материал для гистологического исследования отбирали следующим

образом.

Участки тонкой и толстой кишок, размером 10,0 мм × 10,0 мм, были отобраны остро заточенными глазными ножницами, подписаны, помещены в гистологические кассеты и погружены в стандартизированный фабричный забуференный 10,0% формалин на 2–3-е суток для фиксации.

Фрагменты селезенки, печени и мезентериальных лимфатических узлов, размером 10,0 мм × 10,0 мм × 3,0-4,0 мм, были отобраны скальпельным лезвием, подписаны, помещены в гистологические кассеты и погружены в стандартизированный фабричный забуференный 10,0% формалин на 2–4 суток для фиксации.

Перед проводкой в батарее спиртов промывали образцы органов в проточной водопроводной воде в течение 1–2-х часов.

После этого осуществлялась проводка и заливка материала по стандартному протоколу, адаптированному к исследуемому материалу и условиям лаборатории с использованием изопрепа (на основе изопропилового спирта) и парафиновой среды HISTOMIX.

Срезы толщиной 4,0–4,5 мкм изготавливали на микротоме, ротационном моторизованном РОТМИК-2М.

Окраска гистологических срезов осуществлялась различными методами для определения наиболее оптимального протокола для визуализации эндогенных стадий эймерий.

Микроскопировали гистологические препараты при помощи светооптического микроскопа Микмед-5 при 40-, 100-, 400- и 1000-кратном увеличении.

Микрофотографирование проводили при помощи цифровой камеры Lomo MC-3 № ХС 1272.

Гематологические исследования выполнялись на базе клинико-биохимической лаборатории Санкт-Петербургского государственного университета ветеринарной медицины по общепринятым методикам.

Биохимический анализ крови проводился на анализаторе Clima MC-15.

Клинический анализ крови осуществлялся при помощи гематологического анализатора Micros 60.

Лейкограмма считалась в камере Горяева при помощи микроскопа Carl Zeiss AxioStar plus 1169-150 и камеры Pixera Pro 150ES.

Разработана программа «Parasites» на базе среды программирования Delphi 7.

Статистическая обработка осуществлялась в программе Past3. В качестве проверки достоверности полученных данных использовался критерий Манн – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В ходе нашей работы был проведен ряд клинических, морфометрических, паразитологических, гематологических, патоморфологических и гистологических исследований крольчат пород калифорния, советская шиншилла и их гибрида в норме и на 30-е, 45-е и 60-е сутки после заражения ассоциацией эймерий видов *E. perforans* и *E. irresidua*.

Пищеварительная система кроликов является важнейшим инструментом для конвертации затраченных сил производства в основную продукцию кролиководства, а именно в мясо. Однако эймерии, проникая в элементы эпителиальной пластинки тонкой кишки, наносят колоссальный ущерб тканям слизистой оболочки органа, препятствуя перевариванию и всасыванию питательных веществ из корма, не позволяя тем самым достигнуть максимальной продуктивности.

Так при исследовании влияния эймерий на стенку тонкой кишки мы выявили значительное число меронтов на разной стадии эндоцитарного развития.

Благодаря разнообразию применяемых методов окрасок, мы смогли чётко выявить структуры меронтов, включающих в себя различное количество хаотично или упорядоченно расположенных эндозоитов.

Всего было использовано девять методов окраски, однако наиболее контрастными и способствующими быстрому обнаружению эндоцитарных форм эймерий, по нашему мнению, являются окраски альциановым синим и гематоксилином Карацци и толлуидиновым синим (рисунки 2 и 3).

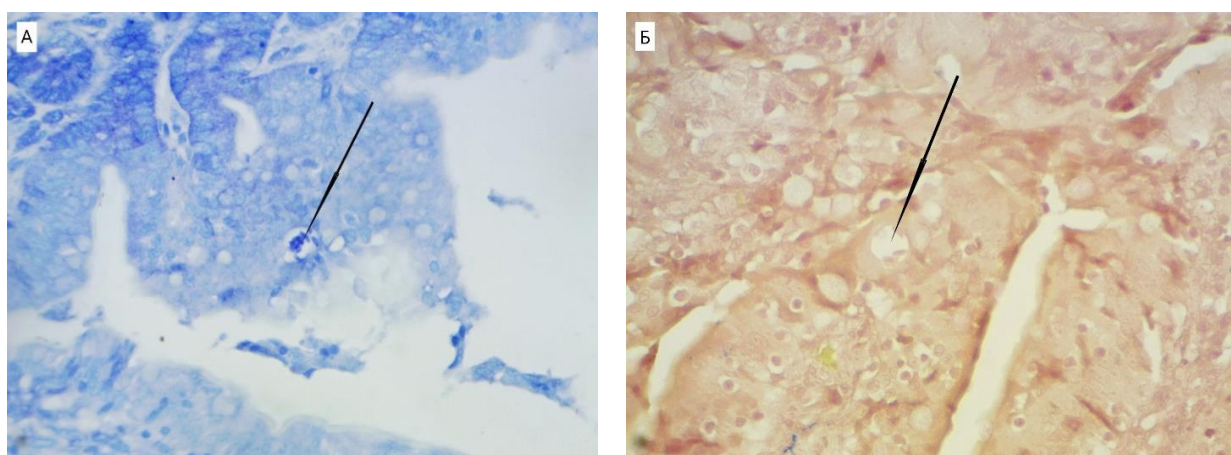


Рисунок 2 - Гистологический препарат эпителиальной и собственной пластинок слизистой оболочки тонкой кишки, поврежденных эндоцитарными стадиями эймерий (стрелки).

*Окраска толлуидиновым синим (А) и Перльс Ван-Гизоном (Б).
Увеличение 400.*

Трофозоиты, как правило, визуализировались на границе эпителиальной и собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки. Однако, довольно часто нам приходилось наблюдать паразитиформные вакуоли в, преимущественно, собственной пластинке слизистой оболочки.

Мерозоиты, в составе меронтов видны отчётливо, их можно легко отличить от клеток фибробластического ряда и ядер каёмчатых энтероцитов, применение же альцианового синего позволяет чётко дифференцировать бокаловидные клетки.

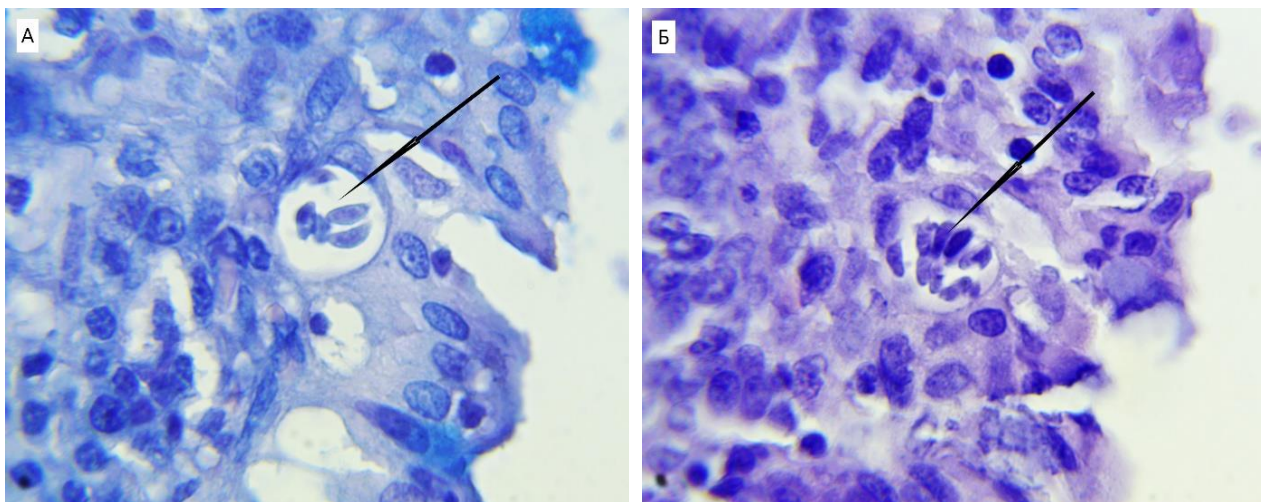


Рисунок 3 - Гистологический препарат эпителиальной и собственной пластинок слизистой оболочки тонкой кишки, поврежденные эндоцитарными стадиями эймерий (стрелки). Окраска альциановым синим и гематоксилином Карацци (А) и гематоксилином Карацци и 1,0% спиртовым эозином (Б). Увеличение 1000.

Также в ряде случаев, благодаря окраске альциановым синим, была обнаружена миграция бокаловидных клеток в толщу гипертрофированной соединительнотканной стромы апикального отдела кишечной ворсинки.

Подобные изменения визуализировались в случае тотального некроза указанного апикального отдела ворсинки слизистой оболочки тонкой кишки, наряду с утратой клеточных границ или при массовом отслоении эпителиальной пластинки с явлениями отёка и разрыва собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки.

Говоря о патоморфологических изменениях, выявленных в тонкой кишке подопытных крольчат, необходимо проанализировать опосредованное влияние, оказываемое эймериями на другие исследованные органы брюшной полости. Исходя из полученных нами результатов, единственным из исследованных органов, в котором были обнаружены патологические изменения, является печень.

Установлено, что у животных контрольной группы гепатоциты однородной структуры на всей площади печёночной доли, вне зависимости от положения последних относительно центральной вены; билиарные и кровеносные капилляры не расширены и не изменены, но при индуцированной инвазии наблюдаются поражения разной степени тяжести. Так, при высокой степени индуцированной интенсивности инвазии, особенно у крольчат породы калифорния, можно наблюдать большое количество крупных вакуолей в гепатоцитах, находящихся ближе к центральной вене, и менее выраженных вакуолей на периферии печёночной лобулы, несмотря на сохранение выраженной балочной архитектоники, целостности центральной вены и хорошо дифференцирующейся триады.

У крольчат остальных породных групп даже при высокой степени интенсивности индуцированной инвазии степень поражений несколько ниже. Так, у породной группы советской шиншиллы наблюдалось небольшое количество вакуолизированных гепатоцитов в области центральной вены, распространяющихся примерно на четверть площади печёночной лобулы с полным сохранением, присущей печени, тканевой архитектоники.

У гибридных крольчат единственным признаком болезни, проявляющемся в структуре органа, является наличие некоторого количества вакуолизированных гепатоцитов, сконцентрированных в непосредственной близости от центрального сосуда печёночной доли.

Исходя из выявленных патоморфологических изменений, обнаруженных в указанных органах брюшной полости, необходимо проанализировать: отражается ли состояние печени и тонкой кишки подопытных крольчат на различных показателях крови животных.

Выявлено, что все породные группы показывают в разной степени выраженную энтеропатию с потерей белка, предположительно, вследствие недостаточности всасывания белка в результате повреждения энтероцитов эпителиальной пластинки тонкой кишки, с последующим снижением синтетической функции печени и нарушением всасывания воды через повреждённую стенку кишки, а также снижением уровня креатинина и активности щелочной фосфатазы на фоне значительного повышения билирубина, что можно связать с прогрессированием угнетения функций печени в группе с малой дозой заражения, холециститом и холангиогепатитом у крольчат со средней и максимальной дозой интенсивности индуцированной инвазии. Наличие подобных патологических изменений подтверждает анализ данных, полученных нами в ходе гематологических исследований.

При проведении эксперимента нами была проведена морфометрия

тонкой и толстой кишок, с целью выявления возможного влияния, оказываемого эймериями на степень развития кишечника.

Мы пришли к выводу, что какое-либо влияние на линейные размеры исследуемых органов простейшие не оказывают, однако появилась возможность наблюдать за увеличением размера тонкой и толстой кишок в возрастной динамике.

Так, у интактных крольчат породы калифорния тонкая кишка в 30-ти дневном возрасте была $149 \pm 1,83$ см, в 45 дней - $197 \pm 0,92$ см, а к 2-м месяцам достигала уже $248,67 \pm 1,87$ см, увеличивая длину на 32,22% и 26,23% соответственно. Контрольные группы животных породы советская шиншилла продемонстрировали схожий результат, увеличив длину кишки в период с 30-ти до 45-ти дней на 28,46%, и с 45-ти до 60-ти дней на 19,0%, демонстрируя снижение скорости роста и развития тонкой кишки. Породная группа гибрида (контроль) на 30-е сутки жизни показала длину тонкой кишки в $202,67 \pm 2,96$ см, увеличив её линейные промеры к 45-ти суткам на 10,0% ($224,33 \pm 2,2$ см), а к 2-м месяцам почти на 7,0% ($240,33 \pm 0,92$ см).

Благодаря проведённым исследованиям мы также можем представить данные по изменению линейных промеров толстой кишки в возрастной динамике. Так, длина толстой кишки интактных крольчат породы калифорния на 30-е сутки жизни составляла $76,67 \pm 1,28$ см, увеличив её к 45-ти суткам на 60,4% ($123 \pm 1,46$ см), а к 2-му месяцу на 17,62% ($144,67 \pm 1,29$ см).

У крольчат породы советская шиншилла, состоящих в контрольной группе, динамика развития толстой кишки была следующая. На 30-й день жизни длина составила $93,33 \pm 2,2$ см. К 45-ти суткам толстая кишка выросла на 38,93% ($129,67 \pm 1,52$ см), а к 60-ти суткам 8,5% ($140,68 \pm 0,76$ см). Гибридные животные контрольных групп показали следующие результаты. Длина толстой кишки крольчат в возрасте 1 месяц составляла $117,67 \pm 2,2$ см, однако, уже через 15 дней увеличилась на 29,18% ($152 \pm 2,39$ см), а к 2-м месяцам всего на 2,85% ($156,33 \pm 2,92$ см) относительно предыдущих измерений.

Исходя из выше изложенного, можно сделать вывод о том, что уже к 2-месячному возрасту снижается скорость развития тонкой и толстой кишки, что могло свидетельствовать о достижении практически полной физиологической зрелости. Однако при изучении материала, представленного в работе Е.В. Кирильцова (2006), исследовавшего кроликов породы «шиншилла», мы пришли к выводу, что увеличение длины тонкой и толстой кишок происходит с некоторой периодичностью.

Результаты морфологических и гематологических исследований

подтверждаются при анализе данных, полученных в ходе изучения показателей продуктивности интактных и инвазированных крольчат.

По результатам нашего исследования интактная группа крольчат породы калифорния уже к 2-месячному возрасту достигла живой массы в $2004 \pm 6,03$ г, с убойным выходом $55,3 \pm 0,15\%$ и массой тушки более 1,0 кг ($1108,33 \pm 6,21$ г), что говорит о достаточно хороших продуктивных качествах.

Советская шиншилла - это более универсальная порода, которую можно использовать не только для производства мяса, но и шкурки.

Контрольная группа кроликов породы советская шиншилла к 60-ти дневному возрасту показала живую массу более 2,5 кг ($2561,67 \pm 17,68$ г), при практически 1,5-килограммовой тушке ($1405,85 \pm 12,76$ кг) и убойном выходе в $54,89 \pm 0,22\%$

Также были исследованы продуктивные показатели межпородных гибридов, которые в некоторых аспектах превзошли родительские породы. Живая масса, достигнутая интактными крольчатами к 2-м месяцам жизни, несколько уступает крольчатам советской шиншиллы и составляет $2504,33 \pm 56,23$ г, в то время как массой тушки ($1446,33 \pm 38,16$ г) и убойным выходом ($57,73 \pm 0,22\%$) превосходит животных пород калифорния и советская шиншилла.

Для наиболее полного анализа патогенного воздействия эймерий на организм кроликов необходимо изучить влияние, оказываемое паразитами на их мясную продуктивность. Поражения захватывают значительную часть полезной площади органа, ограничивая переваривающую и всасывающую способность тонкой кишки, снижая тем самым продуктивные показатели заражённых крольчат.

Для этого были рассмотрены показатели живой массы, массы тушек, убойный выход, а также процент прироста живой массы среди всех породно-возрастных групп. Так порода калифорния демонстрирует самый скромный результат по показателю живой массы относительно советской шиншиллы и гибрида, как в контроле, так и при различной степени индуцированной инвазии. При заражении 50 тыс. ооцист/голову, и убое на 30-е сутки все породные группы показали снижение живой массы относительно контроля в пределах от $1150,5 \pm 15,16$ г до $738,33 \pm 68,67$ г. Так, порода калифорния потеряла чуть больше 10,0% живой массы, советская шиншилла 13,0%, а гибрид почти 11,0%. При заражении 100 тыс. ооцист/голову при тех же сроках убоя все породные группы демонстрировали ещё большую потерю живой массы. Так, крольчата породы калифорния уступают контролю уже 18,6% ($152,6$ г), породы советская шиншилла 15,6% ($166,65$ г), а гибридные животные 16,4% ($206,0$ г). На 45-й день заражения дозами 50 тыс.

ооцист/голову и 100 тыс. ооцист/голову породная группа калифорнии при минимальной степени инвазии порода калифорния уступает контролю около 7,5%, а при заражении 100 тыс. ооцист/голову практически 10,0%, против 10,0% и 18,6% на 30-й день заражения.

Крольчата породы советская шиншилла продемонстрировали наилучший результат, при слабой интенсивности инвазии, потеряв лишь 1,0% (с 1710,67±61,28 г до 1691г±16,05 г), а при заражении 100 тыс. ооцист/голову около 5,0% живой массы (с 1710,67±61,28г до 1624,67±21,24г).

Исследование массы тушек подопытных крольчат показывает схожую с показателем живой массы, динамику изменений.

Через месяц после заражения 50 тыс. ооцист/голову, животные породной группы калифорния показывают снижение массы тушки, относительно контроля на 12,5%, что является самым худшим результатом, так как породная группа советской шиншиллы демонстрирует снижение данного показателя лишь на 5,6%, а гибрид - всего на 8,5% относительно своих контрольных групп.

При заражении 100 тыс. ооцист/голову потери массы тушки у всех породных групп несколько более значительные. Так, крольчата калифорнии уступают контролю уже более 20,0%, что на 7,5% больше, чем в группе, заражённой 50 тыс. ооцист/голову, а крольчата породы советская шиншилла, снизили данный показатель более чем на 16,0% (с 495,68±9,32 г до 441,68±20,53 г). Гибридные крольчата также продемонстрировали снижение показателя массы тушки относительно контроля, однако, не столь значительное, как остальные породные группы. При инвазии 100 тыс. ооцист/голову оно составило чуть более 20,7%, однако проявляя наибольшую разницу с аналогичной группой, зараженной 50 тыс. ооцист/голову, а именно 12,0%. При заражении 50 тыс. ооцист/голову на 60-е сутки после инвазии животные демонстрируют следующие результаты. Крольчата породных групп калифорнии и гибрида показывают снижение массы тушки на 14,0%. Определение массы тушек 2-месячных крольчат породы советская шиншилла показывает снижение данного показателя на 19,0% (с 1405,85±12,76 г до 1137±5,49 г), что уже на 13,4% больше, чем на 45-й день заражения. При средней индуцированной интенсивности заражения порода калифорния показала снижение массы тушки более чем на 27,0% (с 1108,33±6,21 г до 804,6±6,79 г), превзойдя аналогичную группу, зараженную 50 тыс. ооцист/гол на 21,4%. Крольчата породной группы советской шиншиллы потеряли около 17,0% (с 1405,85±12,76 г до 1164,67±3,9 г) относительно своего контроля, показав такой же процент потери, как и гибридные животные.

При заражении 200 тыс. ооцист/голову мы обнаружили, что присутствие эймерий приводит к снижению показателя массы тушки практически на треть, а именно на 28,0% (с 1108,33±6,21 г до 796,67±7,75 г) у животных породы калифорния. Подопытные крольчата советской шиншиллы на данном сроке заражения теряют чуть больше 18,0%, что лишь на 1,0% больше, чем в группе, заражённой 100 тыс. ооцист/голову.

При изучении убойного выхода была обнаружена неоднородность полученных данных. Так, независимо от дозы заражения, одномесечные животные породной группы калифорния показывают снижение убойного выхода в среднем лишь на 1,0% относительно контроля. Убойный выход мяса кроликов породы советская шиншилла колеблется от 0,51% до 2,5%. Гибридные животные, несмотря на более высокие абсолютные показатели живой массы и массы тушек и сохранении сопоставимого убойного выхода относительно контроля при заражении 50 тыс. ооцист/голову, при средней и высокой интенсивности инвазии теряют от 2,8% до 3,0% убойного выхода, что является самой крупной потерей в данной возрастной группе. Исследования животных породы калифорния на 45-й день заражения 50 тыс. ооцист/голову показывает снижение показателя убойного выхода, относительно контроля, на 2,3%. Крольчата советской шиншиллы показывают незначительные потери убойного выхода, и при заражении 50 тыс. ооцист/голову данная породная группа теряет лишь 2,7%, в то время, как при заражении 100 тыс. и 200 тыс. ооцист/голову не более 0,3%. Через 2 месяца после заражения все подопытные кролики породы калифорния показывают практически идентичное снижение убойного выхода (около 4,8%), в отличие от породной группы советской шиншиллы, демонстрирующей постоянное снижение показателя убойной массы, в зависимости от увеличения дозы заражения (0,3-6,0 %).

Заключение

Кролиководство – развивающаяся отрасль животноводства, обеспечивающая население качественным, диетическим и гипоаллергенным мясом, богатым белком и имеющим сбалансированный аминокислотный состав. Однако эймериоз, в случае возникновения на территории хозяйства, резко снижает продуктивность кроликов, значительно повышая себестоимость производства крольчатины. Внедряясь в ткани кишечных ворсинок, возбудители наносят колоссальный вред элементам эпителиальной и собственной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки, препятствуя нормальному процессу пристеночного пищеварения и всасывания питательных веществ из корма, не позволяя кроликам в полной мере реализовать свой потенциал.

Эймериоз кроликов достаточно хорошо изучен. Многие авторы рассматривают морфологию ооцист этих кокцидий, освещают степень распространения данного паразита, исследуют различные лекарственные средства на предмет их эффективности против эймерий, однако обобщение и комплексное рассмотрение данного заболевания с анализом морфологических изменений в органах брюшной полости кроликов разных пород и возрастов, при строго определённых дозах заражения, подтверждённых статистически достоверными результатами гематологических и морфометрических исследований в литературе не обнаружено.

Выводы

По результатам, полученным в ходе научного эксперимента, можно сделать следующие выводы:

1. У интактных животных всех пород органы брюшной полости хорошо развиты и их микроструктура соответствует физиологической норме. При исследовании влияния паразитарной инвазии на стенку тонкой кишки зараженных эймериями животных, выявлены следующие патоморфологические изменения: сохраняются и визуализируются все слои, однако элементы эпителиальной пластинки слизистой оболочки в апикальном отделе кишечных ворсинок демонстрируют признаки внутриклеточного отёка, слияние клеточных границ с просветлением ядер; в структуре эпителиальной и собственной пластинок встречаются паразитиформные вакуоли, образованные эймериями, а на уровне базальной мембраны в структуре ворсинок наблюдается образование субэпителиального отёка. Наиболее глубокие структурные повреждения стенки тонкой кишки отмечаются у крольчат подопытных групп породы калифорния при средней и высокой интенсивности инвазии, которые проявлялись разрушением клеточных элементов, как собственной, так и эпителиальной пластинки слизистой оболочки тонкой кишки, наряду со стромальным отёком, сопровождающимся апикальным некрозом. Бокаловидные клетки часто деформированы, частично или полностью разрушены, а каёмчатые энтероциты утрачивают видимую клеточную границу, сливаясь в единый неоформленный конгломерат разрушенных структур.

2. Наиболее эффективными для выявления эндозоитов эймерий в стенке тонкой кишки у кроликов, были признаны окраски гистологических препаратов альциановым синим и гематоксилином Карацци, а также толлуидиновым синим, позволяющие визуализировать мерозоиты в составе меронтов, дифференцировать их от клеток фибробластического ряда и ядер

каёмчатых энтероцитов. Менее удачными оказались окраски гематоксилином Джилла и 1,0% спиртовым эозином, гематоксилином Майера и 1,0% спиртовым эозином, а также альциановым синим и гематоксилином Майера. За счёт отсутствия контрастности при окрасках по Ван-Гизону, гематоксилином Карацци и 1,0% спиртовым эозином, а также альциановым синим, обнаружение мерозоитов в составе меронтов становится весьма затруднительным.

3. Доказано, что различные дозы ооцист ассоциации эймерий не влияют на степень развитости тонкой и толстой кишок кроликов всех изученных пород.

4. При увеличении интенсивности инвазии живая масса, масса тушек и убойный выход крольчат постепенно снижались на протяжении всего опыта. При высокой интенсивности индуцированной инвазии (200 тыс. ооцист/голову) к концу исследований отмечается снижение показателя массы тушки на 28,0% (с $1108,33 \pm 6,21$ г до $796,67 \pm 7,75$ г) у животных породы калифорния, на 25,0% (с $1446,33 \pm 38,16$ г до $1084 \pm 27,49$ г) – у гибридных крольчат, а у породной группы советская шиншилла на данном сроке заражения потери составляют чуть больше 18,0% относительно контроля.

5. С увеличением возраста животных наблюдается тенденция к снижению интенсивности заражения во всех подопытных группах. Независимо от дозы заражения у одномесячных животных отмечается высокая интенсивность инвазии, которая колеблется от $21435,8 \pm 2458,3$ ооцист/г до $22864,86 \pm 1679,61$ ооцист/г химуса. На наш взгляд, это может быть обусловлено низким иммунным статусом организма крольчат и активным шизогональным делением эндогенных стадий эймерий в стенке кишки. У животных в возрасте 45-ти дней интенсивность заражения при дозе 200 тыс. ооцист/голову выше на 9,45-8,37%, чем при слабой и средней дозе заражения. В двухмесячном возрасте минимальная интенсивность инвазии составляет $16658,56 \pm 1279,44$ ооцист/г химуса (при заражении 50 тыс. ооцист/голову).

6. Наиболее устойчивыми к заражению эймериями, среди чистых пород, являются крольчата породы советская шиншилла. Однако, необходимо отметить, гибридные животные превзошли чистопородных кроликов по продуктивности, и, следовательно, могут быть рекомендованы к разведению для получения мясной продукции.

7. Разработано программное обеспечение «Parasites» для определения наиболее распространенных в кролиководческих хозяйствах видов эймерий по морфологическим признакам.

Практические предложения

Полученные нами в ходе проведённого эксперимента данные могут быть использованы в качестве основной информации при выборе оптимальной породы кроликов для разведения в местности, неблагополучной по эймериозу, что поможет поднять рентабельность производства и, возможно, снизить себестоимость содержания кроликов.

Проведённый анализ различных методов окраски позволит морфологам и паразитологам наилучшим образом визуализировать эндоцитарные стадии вышеуказанных паразитических простейших, что, расширяет возможности более детального изучения взаимоотношений системы паразит-хозяин и будет способствовать созданию более эффективных фармакологических препаратов, направленных на уничтожение эймерий в организме кроликов.

Разработанная программа «Parasites» позволяет с применением современных технологий цифровизации быстро и точно определить виды эймерий по морфологическим признакам паразита, что существенно снижает трудозатраты.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы

Достоверные сведения, полученные нами в ходе выполнения экспериментальной работы по изучению морфологии органов брюшной полости в норме и при эймериозах у кроликов, дополняют теоретические знания в области патологической морфологии и, в частности, гистологии, наглядно демонстрируя взаимодействие паразита и хозяина на микроструктурном уровне.

Практические предложения по дальнейшей разработке темы, вытекающие из всего выше изложенного могут быть следующие:

- Изучить иммунные реакции интактных и заражённых простейшими кроликов;
- Продолжать исследование влияния эймерий на организм кроликов с подбором наиболее подходящей методики изготовления гистологических препаратов;
- Проанализировать влияние протозоозов на состояние органов и систем у кроликов различных пород;
- Расширить видовой состав эймерий кроликов в различных ассоциациях, для наиболее полного спектра данных;
- Для снижения трудовых затрат по дифференцировке паразитов у различных видов животных, расширить базу данных с возможностью точного определения паразитов по морфологическим признакам с помощью разработанной программы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации
Публикации в рецензируемых научных журналах согласно перечню ВАК при
Минобрнауки России

1. Мкртчян, М. Э. Протозойно-гельминтозные ассоциации паразитов у кроликов / М. Э. Мкртчян, **К. В. Сидоренко**, Е. С. Климова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2019. – № 2. – С. 40-42.

2. Сидоренко, К. В. Патоморфологические изменения тонкой кишки и печени крольчат разных пород при эймериозах / К. В. Сидоренко, М. Э. Мкртчян // Иппология и ветеринария. 2021. - № 4(42). - С.198-205.

Статьи в изданиях, индексируемых в базах научного цитирования Web of Science и Scopus

1. Sidorenko, K. The pathogenic effect of eimeria on rabbits of the soviet chinchilla breed and its hybrids with the californian breed /Sidorenko K., Mkrтчyаn M., Kuznetsov Y, Klimova E. //Advances in Animal and Veterinary Sciences. – 2020. - Т. 8. - № 2. - С. 7-11.

2. Кузнецов, Ю. Е. Особенности диагностики и патоморфологии эймериидозов норок в зверохозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации / Ю. Е. Кузнецов, Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, **К. В. Сидоренко**, А. Б. Муромцев // Сельскохозяйственная Биология. - 2020. - Т. 55. - № 2. - С. 378-393.

3. Sidorenko, K. Effects of eimeria protozoa on different rabbit breeds / К. Sidorenko, M. Mkrтчyаn, M. Petrova, E. Taimusova // Bioscience Biotechnology Research Communications. - 2021. - Т. 14. - № 9. - С. 235-239.

Основные публикации в журналах, сборниках и материалах конференций

1. Сидоренко, К. В. Эймериоз, как основная проблема кролиководства / К. В. Сидоренко, М. Э. Мкртчян // Современные проблемы общей и частной паразитологии: Материалы III международного паразитологического симпозиума. – Санкт-Петербург, 18-20 декабря 2019. – С. 246-249.

2. Сидоренко, К. В. Влияние средней интенсивности заражения эймериями на организм 1,5-месячных кроликов / К. В. Сидоренко, М.Э. Мкртчян // Тенденции развития науки и образования. – 2020. – № 65-1. – С. 37-40.

3. Сидоренко, К. В. Влияние индуцированной интенсивности инвазии на морфометрические показатели толстой и тонкой кишок кроликов разных пород/ К. В. Сидоренко // Сборник материалов Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Ю.Ф. Юдичева «Актуальные вопросы и пути их решения в ветеринарной медицине и животноводстве». – Тюмень, 26-28 мая 2021. – С. 282-288.

4. Сидоренко, К. В., Микроструктурные изменения стенки кишечника при паразитировании эндогенных стадий эймерий / К. В. Сидоренко, М.Э. Мкртчян // Материалы национальной научной конференции профессорско-преподавательского состава научных сотрудников и аспирантов СПбГУВМ. - Санкт-Петербург, 25-29 января 2021. – С. 93-95.

5. Sidorenko, K. Comparative analysis of the pathogenic effect of the association of eimeria on hybrid rabbits at different doses of infection / К. Sidorenko, M. Mkrтчyаn, O. Kaidalova // BIO Web of Conferences: International Scientific and Practical Conference, Tyumen, 19–20 July 2021. – Tyumen: EDP Sciences, 2021. – P. 06034.

6. Сидоренко, К. В. Влияние эймериозной инвазии на живую массу 30-ти дневных крольчат / К. В. Сидоренко // Матрица научного познания. - Санкт-Петербург, 2021. – № 8. - С. – 242-246.

7. Сидоренко, К. В. Влияние эймериозной инвазии на организм кроликов / К. В. Сидоренко, М.Э. Мкртчян // Международный научно-исследовательский журнал. - 2021. - № 8-2 (110). – С. 54-57