

Научная статья

УДК 619:636.028:57.086;593.192

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-303-308>

Влияние паразитирования *Eimeria stiedae* в печени кроликов на показатели крови и гистоархитектонику органов

Виктория Васильевна Стаффорд¹

¹ Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко РАН, Москва, Россия

¹ stafford.v.v@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8725-2320>

Аннотация

Цель исследований – оценить влияние паразитируемости на клинические показатели лабораторных животных.

Материалы и методы. Исследована венозная кровь 20 кроликов в возрасте 1 года с целью биохимического и общего анализа, для чего использовали гематологические анализаторы. Вскрытие животных выполняли по методу Шора, оценивали топографию органокомплекса, отбирали патологический материал в 10%-ный забуференный формалин. Для патоморфологического исследования отбирали пробы печени, селезенки, лёгких, почек. Для определения гистологической картины использовали парафиновую заливку образцов на полуавтоматическом оборудовании фирмы Thermo Scientific. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гистоархитектонику препаратов оценивали при помощи микроскопа Axio A1.0, фотосъемку вели при помощи программы AxioVision.

Результаты и обсуждение. В статье приведены данные общего и биохимического анализа крови кроликов, ориентированных для использования в эксперименте. Так же, показана патологоанатомическая картина печени при инвазии животных эймериями, и гистологическая картина паренхиматозных органов. Нами было установлено, что основными биохимическими показателями, выходящими за границы референсных значений, были так печёночные показатели: аспартатаминотрансфераза и аланинаминотрансфераза. Также, наблюдали повышение уровня моноцитов и гранулоцитов в крови. Патологоанатомические изменения были выражены лишь в печени, тогда как в других органах изменений макрокартины не наблюдали. Гистологическое исследование паренхиматозных органов показало существенную патологию в печени, обусловленную наличием эндогенных стадий ооцист в её структуре. Кроме этого, отмечали бурную эозинофильную реакцию в селезенке, большое содержание эозинофилов в сосудах лёгких.

Ключевые слова: *Eimeria stiedae*, кролики, кровь, биохимия, гистология, патология

Благодарность. Работа выполнена в рамках Государственного задания № FGUG-2022-0010.

Прозрачность финансовой деятельности: в представленных материалах или методах автор не имеет финансовой заинтересованности.

Конфликт интересов отсутствует

Для цитирования: Стаффорд В. В. Влияние паразитирования *Eimeria stiedae* в печени кроликов на показатели крови и гистоархитектонику органов // Российский паразитологический журнал. 2022. Т. 16. № 3. С. 303–308.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-303-308>

© Стаффорд В. В., 2022



Контент доступен под лицензией Creative Commons Attribution 4.0 License.
The content is available under Creative Commons Attribution 4.0 License.

Original article

Effects of *Eimeria stiedae* parasitism in the liver of rabbits on blood parameters and histoarchitecture of organs

Victoria V. Stafford¹

¹Federal Scientific Centre VIEV, Moscow, Russia

¹stafford.v.v@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8725-2320>

Abstract

The purpose of the research is to evaluate the parasitism effects on clinical parameters of laboratory animals.

Materials and methods. The venous blood of 20 rabbits aged 1 year was taken to perform biochemical and general blood tests, for which purpose hematological analyzers were used. The animals were dissected using the Shor's method. The topography of the organ complex was evaluated, and pathological material was collected and placed to 10% buffered formalin. For pathomorphological examination, liver, spleen, lung, and kidney samples were taken. To determine the histological pattern, paraffin-embedded samples on Thermo Scientific semi-automatic equipment were used. Histologic specimens were stained with hematoxylin and eosin. The histoarchitecture of the specimens was evaluated using an Axio A1.0 microscope, and photography was conducted with the AxioVision software.

Results and discussion. The article presents the data of the general and biochemical blood tests of the blood from the rabbits intended to be used in the experiment. Further, the pathoanatomical picture of the liver was shown in animals infected with *Eimeria* spp., and the histological pattern was presented for parenchymal organs. We found that the main biochemical values that exceeded reference values were liver values, namely, aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. We also observed an increase in monocytes and granulocytes in the blood. Pathological and anatomical changes were only expressed in the liver, while no changes in the macro pattern were observed in other organs. Histological examination of parenchymal organs showed a significant pathology in the liver due to endogenous stages of oocysts occurred in its structure. Additionally, we observed a strong eosinophil response in the spleen and a high content of eosinophils in the pulmonary veins.

Keywords: *Eimeria stiedae*, rabbits, blood, biochemistry, histology, pathology

Acknowledgements. The study was performed within State Task No. FGUG-2022-0010.

Financial Disclosure: the author has no financial interest in the presented materials or methods.

There is no conflict of interests

For citation: Stafford V. V. Effects of *Eimeria stiedae* parasitism in the liver of rabbits on blood parameters and histoarchitecture of organs. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2022; 16(3): 303–308. (In Russ.).

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2022-16-3-303-308>

© Stafford V. V., 2022

Введение

У кроликов зарегистрировано три вида эймерий: *Eimeria magna*, *E. perforans* и *E. stiedae*, которые относятся к типу *Apicomplexa*, классу *Coccidiophora*, отряду *Cicciidiida*, подотряду *Eimeriina*, роду *Eimeria* [1–3].

Цикл развития *E. stiedae* сложный и включает в себя экзогенные и эндогенные стадии развития, бесполое деление и половое размножение, которые длятся, в среднем, 7 сут.

Из организма кролика (экзогенная стадия) во внешнюю среду попадает неспорулированная форма ооцисты. Затем она переходит в стадию спорогонии, в результате чего путём мейоза делится на 4 споробласта, каждый из которых развивается в одну спороцисту. Спорулированные ооцисты алиментарным путём инвазируют организм кролика (эндогенная стадия). Проходя через кислую среду желудка, происходит разрушение стенки ооцисты и из спорулированной формы в тонком отделе

кишечника выходят спорозоиты и внедряются в эпителий кишки, откуда следуют в печень и инвазируют эпителий желчевыводящих протоков и печени. Здесь начинается процесс мерогонии, который заключается в том, что после первичного внедрения спорозоитов в эпителиальные клетки печени из них уже выходят мерозоиты, которые внедряются в новые клетки, где делятся на мужские и женские гаметоциты, в отличие от предыдущих стадий. Мужские и женские гаметоциты, покидая клетку, оплодотворяются и путём гаметического размножения образуются гаметогонии, что приводит к образованию неспорулированных ооцист, которые выделяются во внешнюю среду для экзогенного развития [4].

Заражение животных происходит по орально-фекальному пути, и от матери к потомству. Возбудитель эймериоза может попасть в места обитания животных с предметами ухода и на обуви персонала, работающего с ними. Наиболее опасно заболевание для крольчат с 1 до 4-месячного возраста; у взрослых особей может проявляться в виде носительства.

Выраженные клинические признаки выявляются у крольчат до 16-недельного возраста и характеризуются вялостью, отказом от корма, диареей; у взрослых кроликов может проявляться только спонтанной диареей.

Профилактика включает в себя применение чистой питьевой воды, качественных кормов, витаминно-минеральных подкормок, соблюдение санитарно-эпидемиологических требований в помещении и в местах содержания животных. При лечении кокцидиозов животных используют кокцидиостатики согласно инструкции.

Целью наших исследований было проведение общего и биохимического анализа крови кроликов, оценка патологоанатомической картины, гистологическое исследование.

Материалы и методы

Исследована венозная кровь 20 кроликов в возрасте 1 года с целью биохимического и общего анализа, для чего использовали гематологические анализаторы «Mindray bc-2800 vet full-auto hematology analyzer», «Beckman coulter au480» и «Furuno CA 180».

Вскрытие животных выполняли по методу Шора, оценивали топографию органокомплекса, отбирали патологический материал в

10%-ный забуференный формалин. Для патоморфологического исследования отбирали пробы печени, селезенки, лёгких, почек.

Для определения гистологической картины использовали парафиновую заливку образцов на полуавтоматическом оборудовании фирмы Thermo Scientific. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Гистоархитектонику препаратов оценивали при помощи микроскопа Axio A1.0 (Carl Zeiss), фотосъёмку вели при помощи программы AxioVision.

Экспериментальное исследование выполняли в соответствии с нормами гуманного обращения с животными, которые регламентированы: «Guidelines of the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, international»; Приказом № 724 от 1984 г. Министерства высшего образования СССР «Правила проведения работ с экспериментальными животными»; Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000 г.), директивой Европейского сообщества (86/609 EC) и Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (Приказ Минздрава России № 267 от 19.06.2003 г.).

Результаты и обсуждение

В ходе исследований нами не было выявлено никаких отклонений в поведении животных; они активно поедали корм, стул был сформирован, шерстный покров густой, равномерный; животные были активными. Однако, полученные результаты анализов крови свидетельствовали о развитии патологии у животных.

В результате исследований было установлено, что основными показателями, значительно превышающими референтные значения, оказались АЛТ и АСТ (примерно в 2 раза от нормы), при этом другие показатели оставались в норме (табл. 1). Подобное повышение свидетельствует о развитии патологии в печени и активном выходе АЛТ и АСТ из разрушенных гепатоцитов в окружающие ткани и далее в кровоток. При общем анализе крови (табл. 2) было выявлено незначительное снижение уровня гемоглобина, что коррелировало с уменьшением числа эритроцитов в периферической крови и низким уровнем

Таблица 1 [Table 1]

Обобщённые данные биохимических показателей крови кроликов
[Hematological data of biochemical's tests of rabbit's blood]

Биохимический показатель крови/референсные значения [Blood chemistry/reference value]	Общ. билируб. 3,4-8,5, мкмоль/л	АСТ, 5-31 Ед/л	АЛТ, 25-60 Ед/л	Мочевина, 2,3-6,6 ммоль/л	Креатинин, 44-141 мкмоль/л	Щелоч. фосфатаза, 19-173 Ед/л	Глюкоза, 6,1-15,9 ммоль/л
Результат [Result]	4,2±0,48	131,6±38,7	155,8±54,7	6,3±1,4	109,5±27,8	69,1±27,8	4,7±1,4

Таблица 2 [Table 2]

Обобщённые данные общего анализа крови кроликов
[Hematological data of general blood tests of rabbit's blood]

Показатель общего анализа крови/референсные значения [Complete blood count/reference value]	Гематокрит, 31-46 %	Гемоглобин, 105-170 г/л	Эритроциты, 5,00-7,60 $10^6/uL$	Среднее сод. гемоглобина, 20,1-25,1 пг	Среднек. конц. гемогл., 320-370 г/л	Гранулоциты, 20,0-59,3 %
Результат [Result]	33,8±4,2	103,3±18	4,7±0,7	22±1,6	300,5±18	64,6±15,2
Показатель общего анализа крови/референсные значения [Complete blood count/reference value]	Лейкоциты, 5,2-13,5 $10^3/uL$	Лимфоциты, 35,2-75,6 %	Лимфоциты абсолютное число, 3,2-9,0 $10^3/uL$	Моноциты, 2,5-6,0 %	Моноциты абсолютное число, 0,1-0,6 $10^3/uL$	СОЭ, 0-6 мм/ч
Результат [Result]	8,6±3,1	26,7±16,1	2,6±2	9±4,7	0,8±0,5	1

среднеклеточной концентрации гемоглобина. Кроме этого, выявлено повышение уровня гранулоцитов в крови и снижение уровня лимфоцитов. Число моноцитов было также незначительно выше нормы.

Оценивая полученные данные, можно сказать, что такое колебание показателей анализа крови связано с развитием паразитарной инвазии у животных с вовлечением в патологию печени.

Для выявления причин резкого повышения печёночных показателей и колебаний показателей общего анализа крови проведены дополнительные исследования. Проводили убой и вскрытие животных, чьи показатели были максимальными по сравнению с остальными животными. Органы у вскрытых животных расположены анатомически правильно, лишь на поверхности печени находились белые образования неправильной формы, слегка выпирающие над поверхностью органа и уходящие вглубь (рис. 1). При этом, печень была правильной формы и с острыми краями. Лишь в области образований наблюдали скопление эритроцитов в виде тонкой каймы.

Селезенка при вскрытии была грубой консистенции с закруглёнными краями, однородного тёмно-красного цвета. На поверхности лёгкого визуализировали гиперемия сосудов, в остальном органы были без изменений. При

исследовании желудочно-кишечного тракта нами не было выявлено никаких патологических изменений.

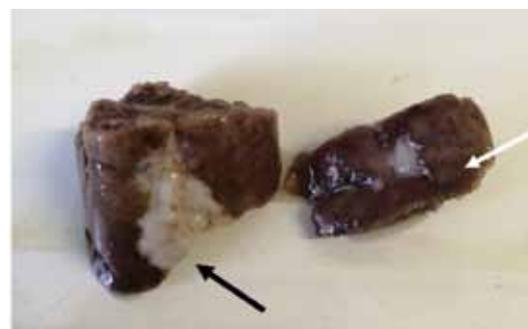


Рис. 1. Макроскопический препарат фрагментов печени кролика с беловатыми образованиями на поверхности

[Fig. 1. Rabbit liver with white area on top]

Опираясь на результаты вскрытия трупов животных и, учитывая клиническую картину при жизни, для гистологического исследования мы взяли селезенку, лёгкое и печень.

На рис. 2 приведена микрокартина селезенки и лёгкого. Так, у селезенки плотная утолщённая капсула, красная пульпа активно инфильтрирована клеточным компонентом,

белая пульпа представлена лимфоидными фолликулами 1 и 2 порядка с чётко выраженными границами их зон (рис. 2, А). При более крупном увеличении заметно большое скопление эозинофилов между спленоцитами

красной пульпы (рис. 2, В). В кровеносном сосуде венозного типа в лёгком выявлена сильная обтурация просвета вены клетками периферической крови, в том числе с множеством эозинофилов (рис. 2, С).

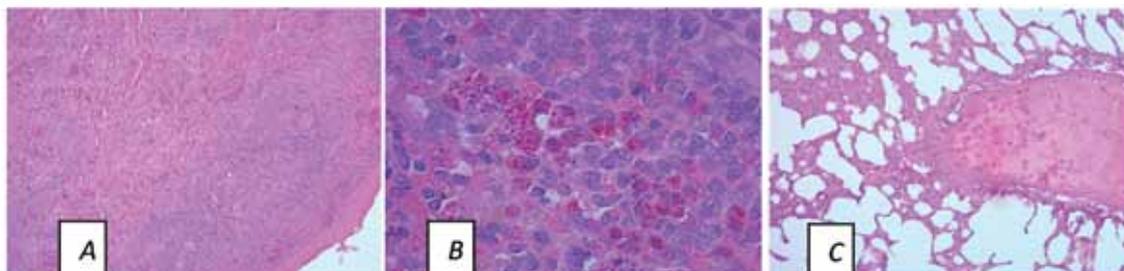


Рис. 2. Гистологический срез паренхиматозных органов кролика:
А – селезёнка (ув. $\times 100$); В – селезёнка (ув. $\times 630$); С – лёгкое (ув. $\times 100$)
(окраска гематоксилином и эозином)

[Fig. 2. Histological slices of parenchymal organs of rabbit:
А – spleen ($\times 100$); В – spleen ($\times 630$); С – lung ($\times 100$)
(stained with hematoxylin and eosin)]

Поскольку нами было выявлено наличие новообразований на печени, то особое гистологическое внимание было уделено исследованиям срезов печени. Так, на рисунке 3 приведены гистопрепараты из мест локализации беловатых участков и из окружающих тканей. В триаде печени было выявлено значительное расширение просвета желчевыводящих протоков (рис. 3), в ложементе хорошо визуализируется масса овальных оксифильно окрашенных включений с чёткой границей, в некоторых из них хорошо заметно округлое скопление зернистости (рис. 3, В, С). Кроме

включений, в просвете расширенного желчевыводящего протока заметна масса эпителиальных клеток на разной стадии распада. При более крупном увеличении (рис. 3, С) визуализируется выход округлого зернистого включения из эпителиальной клетки протока.

В окружающих тканях выражена демаркационная зона, состоящая из лимфоцитов и эозинофилов. Портальные кровеносные сосуды в состоянии отёка, в паренхиме печени множество диффузно расположенных эозинофилов, в гематолимфатических протоках нередко скопление лимфоидных клеток.

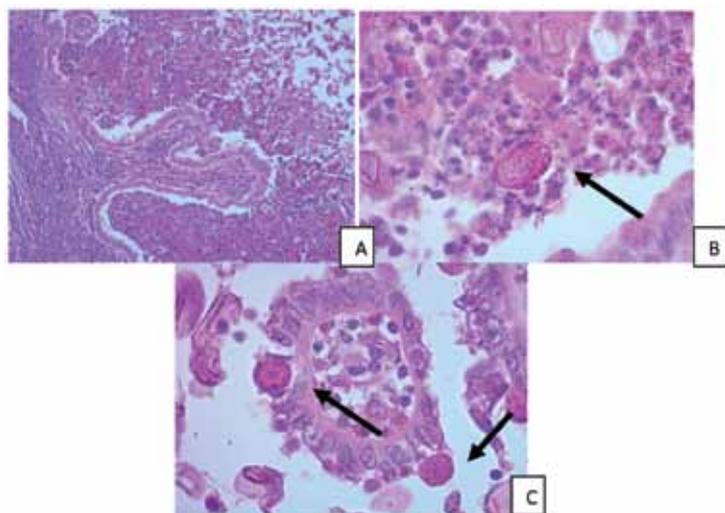


Рис. 3. Микрокартина печени кролика, инвазированного *E. stiedae*:
А – расширенный просвет желчевыводящего протока с ооцистами и эпителиальными клетками на разной стадии гибели (ув. $\times 100$); В – ооциста (ув. $\times 630$);
С – гаметоциты, выходящие из эпителиальных клеток протока (ув. $\times 630$)
(окраска гематоксилином и эозином)

[Fig. 3. Histological slices of liver of a rabbit infected with *E. stiedae*:
А – wide lumen of cholic duct consider a lot of oocysts and dead epithelial cells ($\times 100$);
В – oocyst (arrow) ($\times 630$);
С – gametocytes coming out of the epithelial cells of the cholic duct ($\times 630$)
(stained with hematoxylin and eosin)]

Заклучение

Важным вопросом в выполнении научно-исследовательских работ является всестороннее исследование лабораторных животных в предэкспериментальном периоде, так как определение здоровья животных только по клиническим признакам может привести к ложным результатам в ходе эксперимента, особенно при определении влияния испытуемого препарата на весь организм.

References

1. Качанова С. П. Современные меры и средства борьбы с кокцидиозами птиц. М.: ВНИИТЭИСХ, 1977. С. 36–45.
2. Ятусевич А. И., Забудько В. А. Эймериоз нутрий. Витебск: Монография. УОБГАВМ, 2006. 87 с.
3. Duszynski D. W. Enteric protozoans Cyclospora, Eimeria, Isospora and Cryptosporidium. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2001; 2: 416-459.
4. Xi Y., Xiao J., Zhou X. et al. Global transcriptome landscape of the rabbit protozoan parasite *Eimeria stiedae*. *Parasites Vectors*. 2021; 14: 308. DOI:10.1186/s13071-021-04811-5

Статья поступила в редакцию 24.05.2022; принята к публикации 28.06.2022

Об авторе:

Стаффорд Виктория Васильевна, Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко РАН (109428, Москва, Рязанский проспект, д. 24, к. 1), Москва, Россия, кандидат биологических наук, ORCID ID: 0000-0001-8725-2320, stafford.v.v@gmail.com

Автор прочитала и одобрила окончательный вариант рукописи.

References

1. Kachanova S. P. Modern control measures and means of avian coccidiosis. Moscow: All-Union Scientific Research Institute of Information and Feasibility Studies in Agriculture, 1977; 36–45. (In Russ.)
2. Yatusевич A. I., Zabudko V. A. Eimeriosis of the nutria. Vitebsk: Monograph. Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, 2006; 87. (In Russ.)

3. Duszynski D. W. Enteric protozoans Cyclospora, Eimeria, Isospora and Cryptosporidium. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2001; 2: 416-459.
4. Xi Y., Xiao J., Zhou X. et al. Global transcriptome landscape of the rabbit protozoan parasite *Eimeria stiedae*. *Parasites Vectors*. 2021; 14: 308. DOI:10.1186/s13071-021-04811-5

The article was submitted 24.05.2021; accepted for printing 28.06.2022

About the author:

Stafford Victoria V., Federal Scientific Centre VIEV (24 Ryazansky prospect, Bldg. 1, Moscow, 109428), Moscow, Russia, Cand. Sc. Biol., ORCID ID: 0000-0001-8725-2320, stafford.v.v@gmail.com

The author has read and approved the final manuscript.