

Библиография

1. Клименкова И.В. Микроморфология щитовидной железы у кур и гусей в постнатальном онтогенезе и ее реактивные изменения под влиянием кормовой добавки «АКВАКОМПЕНСАНТ» и вакцинных антигенов: автореф. дис. ...канд. вет. наук. — Витебск, 2006.
2. Комаров А.В. Анатомическое вскрытие и изучение особенностей тела домашних птиц. — Елгава: Латв. СХА, 1981.
3. Кононский А.И. Материалы по гистохимии органов желудочно-кишечного тракта кур в онтогенезе / Пути повышения производства и улучшения качества продукции земледелия и животноводства. — Белая Церковь, Белоцерковский СХИ, 1980. — С. 111–114.
4. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. — JL: Медицина, 1969.
5. Профилактика дефицита микроэлементов у крупного рогатого скота Владимирской области / В.В. Пронин и др. — Иваново: Ивановская ГСХА, 2010. — 23 с.

Summary

L.V. Frolova, V.V. Pronin, S.P. Fisenko, M.S. Dyumin. Histological and Histochemical Characteristics of the Thyroid Gland of Vladimir Argillaceous Rock Geese on the Application of Iodcasein. The article presents the results of the histological and histochemical studies of the thyroid gland of vladimir argillaceous rock geese. Application of Iodcasein contributes to the increase of functional activity of the thyroid gland.

Патоморфологические изменения внутренних органов радужной форели при экспериментальном инфекционном некрозе поджелудочной железы лососевых

В.В. Стаффорд, Н.Ю. Кандрина, Е.А. Завьялова, кандидат биологических наук,
М.И. Гулюкин, доктор ветеринарных наук
Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени Я.П. Коваленко (Москва).

Ключевые слова: гистология, лососевые рыбы, патоморфология, полимеразная цепная реакция, IPNV
Сокращения: ПЦР — полимеразная цепная реакция, РНК — рибонуклеиновая кислота, ТЦД — тканевая цитопатическая гоза, IPNV — Infectious pancreatic necrosis virus (вирус инфекционного некроза поджелудочной железы)

Введение

В нашей стране уделяется большое внимание развитию аквакультуры, особенно товарному выращиванию лососевых рыб и воспроизводству их запасов в естественных водоемах. Интенсификация рыбоводства напрямую связана как с перевозками рыбопосадочного материала внутри страны, так и поставками икры и личинки из-за рубежа, что создает угрозу заноса возбудителей инфекционных болезней различной этиологии в рыбоводные хозяйства РФ [1]. Среди вирусных

заболеваний лососевых рыб широкое распространение в мире получил IPN [4, 5].

В 1960 г. доктор К. Wolf в США впервые выделил IPNV. Работа проводилась на культурах эксплантатов радужной форели, материал для исследования был получен от инфицированной особи [5]. В Советском Союзе IPN наблюдали в 1986–1987 гг. [1], а в современной России, впервые после продолжительного перерыва, в 2001 г. [2]. В настоящее время приказом Министерства сельского хозяйства РФ данная вирусная инфекция отнесена к особо опасным заболеваниям.

В организме рыб IPNV вызывает септический процесс, характеризующийся дегенеративными и некротическими изменениями в поджелудочной железе, других органах и тканях. Протекая в форме эпизоотий при температуре воды около 14 °С, вызывает гибель молоди до 80 % и более [2]. У погибшей рыбы отмечают потемнение кожных покровов, экзофтальм. При

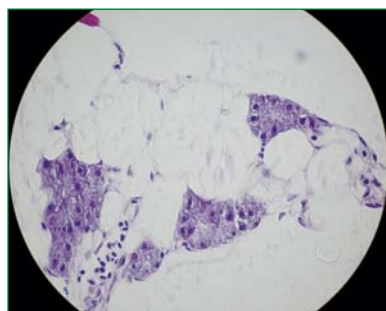


Рис. 1. Парафиновый гистосрез поджелудочной железы, с участками некроза панкреатических клеток, кариопикнозом и смазанностью границ клеток. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

вскрытии наблюдают точечные кровоизлияния на пилорических придатках и печени.

До настоящего времени IPNV диагностировали выделением вируса в культуре клеток с последующей идентификацией серологическими методами (иммуноферментный анализ и реакция нейтрализации). В современных диагностических исследованиях широко применяют ПЦР [6].

Немаловажным в диагностике IPN и оценке степени патологических процессов являются патоморфологические исследования, которые позволяют не только детально изучить патогенез, но и своевременно ставить предварительный диагноз.

Цель исследования

Выявить характер поражения и основные патоморфологические признаки при экспериментальном заражении радужной форели IPNV при использовании молекулярно-биологического метода детекции вируса как дополнительного способа определения чистоты эксперимента.

Материалы и методы

Эксперимент по заражению IPNV проводили в аквариальной лаборатории ихтиопатологии. Сеголеток форели массой 10...15 г содержали в постоянно аэрируемых аквариумах, при температуре воды 15 °С. На протяжении всего опыта рыбам давали гранулированный корм с периодичностью 1 раз/сутки. В опыт включили 35 рыб, из них 10 особей — контрольная группа и 25 — опытная. Рыб в опытной группе заражали культуральным вирусом внутривентриально в дозе 0,1 мл и титре $10^{8,5}$ ТЦД_{50/мл}. Рыбам контрольной группы вводили равный объем питательной среды Игла МЭМ.

Идентификация вируса. На 3-и, 6-е, 10-е, 14-е сутки после заражения отбирали пробы мозга, жабр, паренхиматозных органов, готовили гомогенаты, которые после просветления центрифугированием использовали для заражения культур клеток RTG-2 и EPC. Из гомогената выделяли суммарную РНК вируса сорбционным методом, проводили обратную транскрипцию и ПЦР с применением электрофорезного способа детекции.

Гистологические исследования. Материал брали на 14-е и 20-е сутки после заражения, фиксировали в 40%-м растворе формальдегида в соотношении с водой 1:8 по методике, ранее отработанной сотрудниками лаборатории. После фиксации образцы промывали

в проточной воде и далее подготавливали объекты рутинными методами [3]. Из парафиновых блоков делали срезы толщиной 3 мкм, наклеивали на предметные стекла, депарафинировали и окрашивали гематоксилином и эозином. В качестве объектов исследования использовали внутренние органы — поджелудочную железу, печень, селезенку, кишечник (средний и задний отделы), пилорические придатки, сердце, головной мозг, жабры.

Результаты

Детекция вируса методом ПЦР показала, что вирус выявлялся в печени, поджелудочной железе с 6-х суток после заражения, а с 10-х суток — в жабрах, асцитной жидкости и почках. В пробах, полученных из материала головного мозга, вирус не обнаруживали.

Через 20 дней наблюдали изменение поведенческих реакций: нарушение координации движений, отказ от корма и гибель рыб. Макро- и микроскопические признаки соответствовали классическому проявлению инфекции, описанному в литературе.

В поджелудочной железе на 14-е сутки после заражения отмечали вакуолизацию цитоплазмы со смещением ядер клеток к краю, но гистоструктура железы была сохранена и границы клеток четко видны. На 20-е сутки после заражения в большинстве случаев в ней отмечали кариопикноз, смазанность границ клеток, а также обширные участки некроза ткани (рис. 1).

В печени на 14-е сутки наблюдали очаговые и диффузные кровоизлияния; интима сосудов различного диаметра практически незаметна (рис. 2), гепатоциты в состоянии вакуольной дистрофии, мелкие очаги некроза ткани. На 20-е сутки некроз приобретал диффузный характер и занимал более обширные участки паренхимы печени.

На протяжении всего кишечника, а также в пилорических придатках было хорошо заметно усиление секреторной функции, которое морфологически проявлялось увеличением количества слизи в бокаловидных клетках. Кроме того, отмечали локальную десквамацию покровного эпителия ворсин, которая к 20-м суткам опыта приобретала более обширный характер, в результате чего в просвете кишечника обнаруживали клеточные конгломераты. В подслизистом слое отмечали незначительный отек, в котором находили крупные клетки округлой формы с эозинофильной зернистостью и эксцентрично расположенным ядром. Ядра мезотелия серозной оболочки сморщены и имели просветление со стороны цитоплазмы.

Селезенка имела сетчатое строение за счет разрастания стромальной ткани органа и редукции фолликулярных участков. В самой строме органа в большом количестве отмечали наличие клеток макрофагального типа.

В миокарде наблюдали незначительную инфильтрацию ткани клетками лимфоидного типа. Поперечная исчерченность кардиомиоцитов была сохранена.

В микроглии мозжечка обнаруживали инфильтрацию лимфоидными клетками, разреженность структуры и полиморфность клеточных элементов (рис. 4).

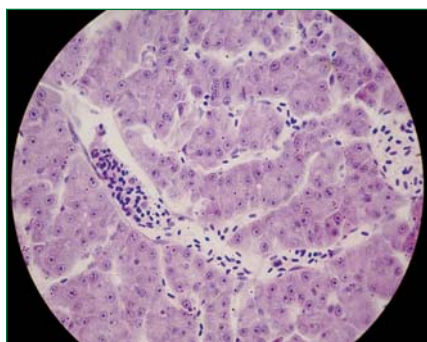


Рис. 2. Парафиновый гистосрез печени. На рисунке представлен кровеносный сосуд в печени с истонченной стенкой и десквамацией интимы. В просвете сосуда находятся гипохромные эритроциты. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$

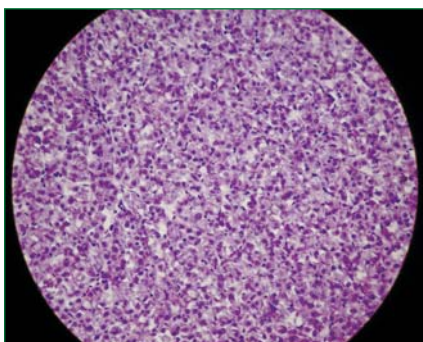


Рис. 3. Парафиновый гистосрез печени. Паренхима органа с участками некроза гепатоцитов, кариопикнозом ядер клеток и пролиферацией ткани лимфоидными клетками. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

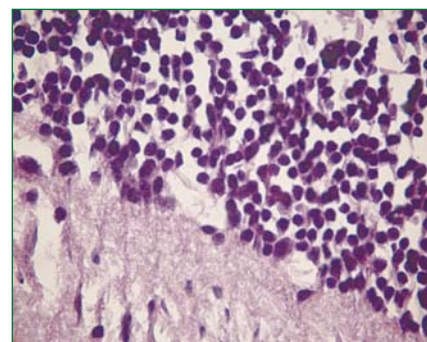


Рис. 4. Парафиновый гистосрез мозжечка. Инфильтрация микроглии. Отек ткани. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 630$

На протяжении всего опыта у рыб контрольной группы изменений поведения не отмечали, а также отсутствовали клинические признаки проявления патологии.

Выводы

В результате проведенных исследований экспериментально воспроизведена клинично-анатомическая картина IPN, идентичная естественному проявлению,

вирус изолирован в исходном титре и подтвержден в ПЦР.

Наиболее выраженные патологические изменения, вызванные вирусом при экспериментальном заражении форели, наблюдали в поджелудочной железе, печени и во всем кишечнике на 20-е сутки опыта. Обширные повреждения тканей нарушают экзокринную и эндокринную функции органов. Отмеченные нами патологические изменения головного мозга следует считать вторичными.

Библиография

1. Завьялова Е.А. Цитоморфологическая характеристика культур клеток рыб и их чувствительность к некоторым вирусам: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — М., 2006.
2. Кандрина Н.Ю., Ломакина Н.Ф., Завьялова Е.А., Корнев Д.В.. Идентификация вируса некроза поджелудочной железы методом электронной микроскопии и в полимеразной цепной реакции / Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных болезней молодняка и других возрастных групп сельскохозяйственных животных, рыб и пчел». — М., 2011.
3. Пичугина Т.Д., Завьялова Е.А., Борисова М.Н., Дьяконов Л.П., Надточей Г.А., Шуляк А.Ф. Выделение вируса инфекционного некроза поджелудочной железы // Ветеринария, 2005; 1: 31–32.
4. Стаффорд В.В., Якушева О.В. Методические рекомендации по патогистологической технике в ихтиопатологии/ Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы инфекционных болезней молодняка и других возрастных групп сельскохозяйственных животных, рыб и пчел». — М., 2011.
5. Johansen L.-H., Sommer A.-I. Infectious pancreatic necrosis virus infection in Atlantic salmon *Salmo salar* post-smolt affects the outcome of secondary infections with infectious salmon anaemia virus or *Vibrio salmonicida* // J. Diseases of aquatic organisms, 2001; 47: 109–117.
6. Wood E.M., Snieszko S.F., Yasutake W.T. Infectious pancreatic necrosis in brook trout// A.M.A. Arch. Patol., 1995; 60 (1): 26–28.

Summary

V.V. Stafford, N.Yu. Kandrina, E.A. Zavyalova, M.I. Gulyukin. Pathomorphological changes in the internal organs of rainbow trout with the experimental infectious necrosis of the pancreas of the Salmonidae. Infectious pancreatic necrosis virus was identified by histopathology method in paraffin-embedded tissue of rainbow trout. Degenerating and necrotic cells were observed. Virus identification have been confirmed by PCR and cell lines.



Veterinary Dermatology/Российское издание — российская версия официального издания Европейского ветеринарного дерматологического общества, Британской ассоциации ветеринарии мелких домашних животных (BSAVA) — журнала **Veterinary Dermatology**.

Издательский дом «Логос Пресс», 127055, Москва, а/я 9.
<http://logospress.ru/>, e-mail: info@logospress.ru,
тел/факс: +7 (495) 220-48-16