

УДК 576.893.17+597.5

**ИЗМЕНЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ КРОВИ БОЛЬШЕРОТОГО БУФФАЛО
ICTIOBUS CYPRINELLUS ПРИ ЗАРАЖЕНИИ
ICHTHYOPHTHIRIUS MULTIFILIIS
(CILIATA, OPHRYOGLENIDAE)**

И. Д. Тромбицкий

Изучены параметры красной и белой крови буффало при ихтиофтириозе. Идентификация лейкоцитов осуществлена по классификации, разработанной Н. Т. Ивановой. У пораженных *I. multifiliis* рыб выявлена абсолютная лимфопения, появление в периферической крови большого числа промиелоцитов, левый сдвиг нейтрофильного ряда, значительные нарушения морфологии клеток крови.

Изучению патогенеза при ихтиофтириозе посвящено значительное количество работ, проведенных главным образом на карпе и лососевых (Комарова, 1975, 1982; Панасенко, 1977; Головацкий, Авдосьев, 1979; Nigrelli e. a., 1976). Ряд исследований связан с выявлением изменений гематологических показателей при заболевании. Большинство авторов (Бауер, 1955; Решетникова, 1962; Головина и др., 1977; Магеррамова, 1977) отмечают снижение уровня гемоглобина в крови и уменьшение числа эритроцитов у больных рыб. В лейкоцитарной формуле увеличивается доля моноцитов и нейтрофилов и возрастает абсолютное число нейтрофилов (Головина, 1978). Однако большинство исследователей изучали кровь лишь на одной стадии заболевания, при значительной интенсивности инвазии. Исключением является работа Хайнеса и Спиры (Hines, Spira, 1973, 1974), наблюдавших динамику показателей красной и белой крови карпа на различных этапах болезни.

В начале 70-х годов в прудовые хозяйства СССР были завезены североамериканские чукучановые рода буффало *Ictiobus*, оказавшиеся весьма восприимчивыми к ихтиофтириозу. Задачей настоящего исследования явилось выявление особенностей реакции красной и белой крови большеротого буффало *I. cyprinellus* на заражение ихтиофтириусом, использование которых позволило бы оценить степень и характер патогенного воздействия паразита на рыбу и дало бы возможность применять их для диагностики перенесенного заболевания. Поскольку сведения о морфологии клеток крови буффало крайне фрагментарны, было предпринято ее изучение.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Рыб средней массой 36 г содержали в 75-литровых аквариумах при температуре 16—18° и ежедневной смене 1/5 части воды. Заражение осуществляли кратковременной посадкой инвазированных одновозрастными трофонтами сеголеток, что позволило получить высокую интенсивность инвазии и обеспечило синхронность развития ихтиофтириусов. Кровь у рыб отбирали в разные периоды: при массовом их заражении молодыми трофонтами (около 1 тыс. экз. на одну рыбу — группа 1а); во время созревания трофонов (инфузории видны невооруженным глазом, их число 400—600 экз. на одну рыбу — группа 1б); в предлетальном состоянии (трофонты покинули рыбу, с которой слизь сходила клочьями — группа 1в).

В опытном пруду сеголеток буффало исследовали: в октябре при температуре воды 10—12° и интенсивности заражения 70—100 трофонтов на одной рыбе — группа 2а, в декабре — при интенсивности заражения 300—400 экз. (заболевание длилось с октября) — группа 2б, в январе — рыб группы 2б, выздоравливающих после ихтиофтириоза, при температуре 3—5° (группа 2в). В каждой группе было не менее 15, а в аквариальных опытах — 11 рыб. Всего исследовано 95 больных и 55 здоровых сеголеток.

Параметры крови определяли общепринятыми методами (Головина, 1979). Лейкоциты идентифицировали с использованием классификации форменных элементов крови, предложенной Ивановой (1970).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

У здоровых сеголеток большеротого буффало выявлены следующие клетки крови: гемоцитобласты, эритробласты, пронормобласты, базофильные, полихроматофильные и оксифильные нормобласты, зрелые эритроциты, тромбо-

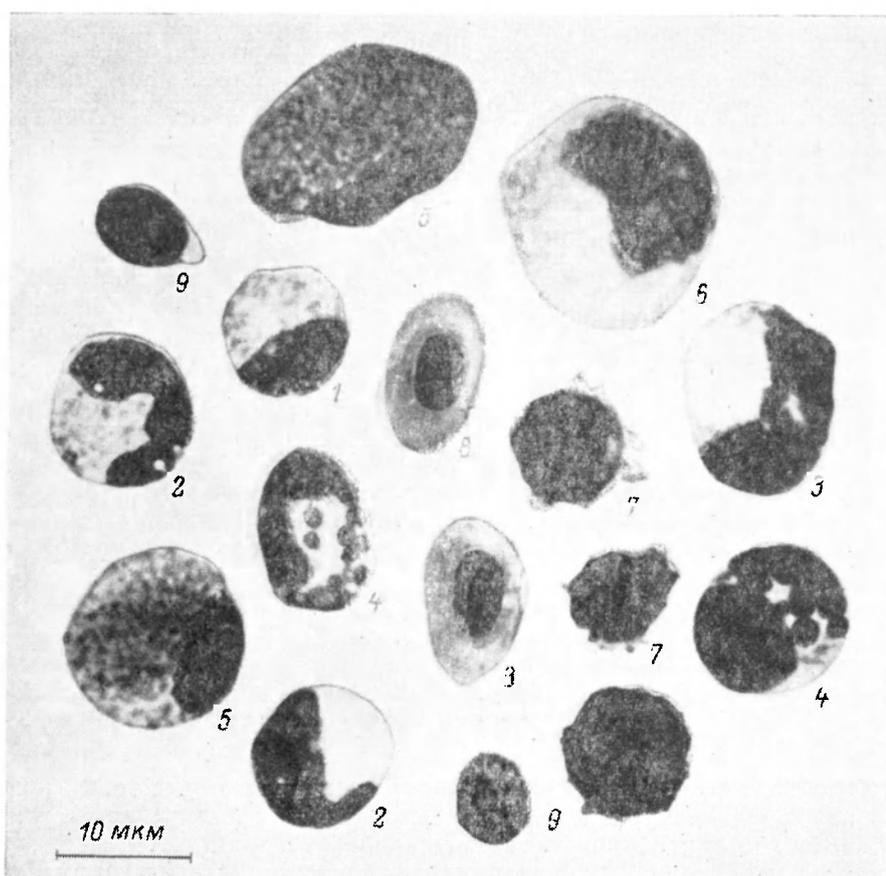


Рис. 1. Морфологическая картина крови здоровых сеголеток буффало (увел. 90×7).

1 — метамиелоцит; 2 — палочкоядерный; 3 — сегментоядерный нейтрофил; 4 — эозинофил; 5 — пенистые клетки; 6 — моноцит; 7 — большой, средний и малый лимфоциты; 8 — эритроциты; 9 — тромбоциты. Окраска по Паппенгейму.

циты, лимфоциты, моноциты, промиелоциты, нейтрофилы и эозинофилы, пенистые клетки, базофилы, псевдобазофилы и псевдоэозинофилы; последние три группы клеток встречаются крайне редко. Кровь буффало носит лимфоидный характер. Большинство форменных элементов крови буффало оказались морфологически сходными с клетками крови других видов рыб, в частности карпа (рис. 1). К наиболее своеобразным по строению следует отнести пенистые клетки. Это крупные, 12—21 мкм в диаметре, овальные либо удлинённые лей-

коциты с сильно гранулированной голубоватой цитоплазмой. Налегая на ядро, гранулы создают впечатление его ажурности. Ранее эти клетки были отмечены у некоторых рыб Ивановой (1970), Хайнесом и Спирой (Hines, Spira, 1973) у карпа. Эритроциты и лейкоциты буффало крупнее, чем клетки крови большинства видов рыб. Число лейкоцитов на первом году жизни невелико и измеряется обычно несколькими тысячами в 1 мкл крови.

При ихтиофтириозе в крови рыб наблюдали значительное количество лейкоцитов, отличающихся по строению от типичных форм (рис. 2). Цитоплазма мно-

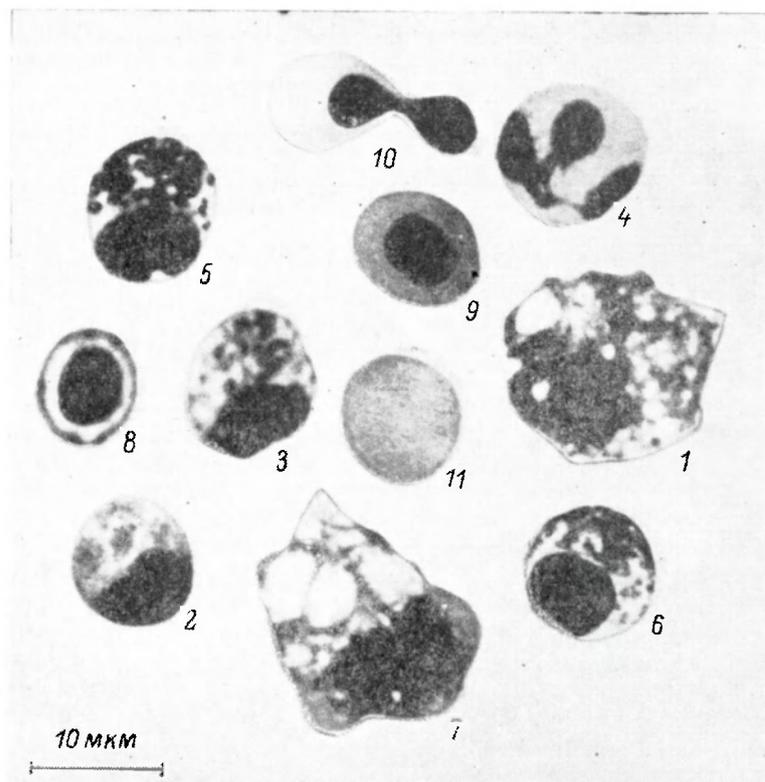


Рис. 2. Изменение морфологии некоторых клеток крови буффало при ихтиофтириозе (увел. 90×7).

1 — промиелоцит с вакуолизированным ядром и цитоплазмой; 2 — метамиелоцит с мозаично окрашенной цитоплазмой; 3 — метамиелоцит с участками резко базофильной цитоплазмы; 4 — нейтрофил с гиперсегментированным ядром; 5 — базофил; 6 — эозинофил с мелкими игольчатыми гранулами; 7 — моноцит с вакуолизированной цитоплазмой; 8, 9 — базофильный и полихроматофильный нормобласты; 10 — эритроцит в состоянии амитоза; 11 — эритропластида (безъядерный эритроцит). Окраска по Паппенгейму.

гих нейтрофилов неоднородно окрашена, часто вакуолизирована. Большинство моноцитов имели вакуолизированное ядро и цитоплазму; некоторые были преобразованы в макрофаги, достигающие 30 мкм в диаметре. Среди эозинофилов, помимо нормальных, встречены клетки с крупными игольчатыми оранжевыми гранулами. Ядро веретеновидных тромбоцитов нередко рассечено на две доли. Среди эритроцитов наблюдался анизоцитоз.

Реакция красной крови на ихтиофтириоз в аквариумах и опытном пруду оказалась различной (табл. 1 и 2). В аквариумах за недостоверным снижением содержания гемоглобина в группе 1а следовало значительное ($P < 0.05$) повышение концентрации гемоглобина у рыб группы 1б и особенно 1в. В пруду при сравнительно невысокой, но продолжительной инвазии наблюдались признаки анемии (группа 2а), которые особенно усилились зимой, когда интенсивность заражения достигла пика (2б). Спустя месяц после заболевания, в результате которого погибло 72% рыб, у выздоравливающих сеголеток (группа 2в) наряду с низкими показателями упитанности продолжали регистрироваться признаки анемии (табл. 2).

Т а б л и ц а 1
Изменение гематологических показателей
большеротого буффало при ихтиофтириозе в аквариумах

Показатель	Группа рыб			
	здоровая	больная (1а)	больная (1б)	больная (1в)
Гемоглобин, г/л	84.8 +1.9	76.6 +3.8	96.9 +2.1 *	101.1 +0.9 *
Гематокрит, л/л · 10 ²	37.6 +1.1	30.7 +2.1 *	33.5 +1.8	36.1 +0.5
Эритроциты, млн/мкл	1.28 +0.11	1.16 + 0.04	1.22 +0.32	1.41 +0.01
Тромбоциты, тыс./мкл	8.52 +1.70	4.62 +1.83	4.38 +0.85	4.04 +0.47
Лейкоциты, тыс./мкл,	22.52 +3.00	4.62 +1.04 *	1.54 +0.16 *	2.92 +0.17 *
в том числе (шт. в 1 мкл):				
бластные формы	—	89	23	91
промиелоциты	20	696 +208 *	338 +57 *	1651 +141 *
миелоциты нейтрофильные	108 +29	296 +78 *	317 +52 *	448 +41 *
метамиелоциты нейтрофильные	434 +139	501 +193	176 +37 *	156 +17 *
палочкоядерные нейтрофилы	617 +197	375 +102	91 *	11 *
сегментоядерные нейтрофилы	519 +145	169 +60	25 *	— *
общее число нейтрофилов	1677 +512	1341 +275	609 +96	616 +39
эозинофилы и псевдоэозинофилы	158 +43	60 *	91	94
базофилы и псевдобазофилы	—	27	5	22
пенистые клетки	253 +85	683 +198	29 *	80 *
моноциты	316 +48	376 +86	174 +33 *	181 +22 *
лимфоциты	20170 +2030	1341 +620 *	231 +44 *	110 +16 *

Пр и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2 у цифр со звездочкой — показатель достоверно отличается от контрольного ($P < 0.05$).

Т а б л и ц а 2
Изменение гематологических показателей
большеротого буффало при ихтиофтириозе в пруду

Показатель	Группа рыб				
	осень		зима		
	здоровая	больная (2а)	здоровая	больная (2б)	выздоровливающая (2в)
Гемоглобин, г/л	83.3 +1.4	68.2 +3.6 *	84.1 +2.2	37.1 +0.3 *	67.5 +4.5
Гематокрит, л/л · 10 ²	37.8 +0.7	26.6 +1.3 *	37.7 +1.5	29.6 +1.07 *	24.5 +1.6 *
Эритроциты, млн/мкл	1.17 +0.09	0.99 +0.05	1.12 +0.03	0.78 +0.04	0.96 +0.05
Тромбоциты, тыс./мкл	1.18 +0.10	3.28 +0.86	7.87 +1.57	2.76 +0.42	4.78 +0.74
Лейкоциты, тыс./мкл,	7.03 +1.20	5.69 +0.76	7.62 +1.28	1.82 +0.13 *	5.01 +0.61
в том числе (шт. в 1 мкл):					
бластные формы	33	20	5	15	7
промиелоциты	41	154 +20 *	30	569 +63 *	105 +31 *
миелоциты нейтрофильные	155 +14	136 +19	138 +16	373 +55 *	106 +27
метамиелоциты нейтрофильные	491 +14	296 +81	262 +49	120 +20 *	461 +111
палочкоядерные нейтрофилы	503 +155	445 +87	245 +52	35 *	877 +184 *
сегментоядерные нейтрофилы	188 +28	221 +51	349 +42	— *	614 +112 *
общее число нейтрофилов	1337 +380	1108	994 +63	528 +48 *	2057 +501 *
эозинофилы и псевдоэозинофилы	266 +50	156 +34	184 +19	49	62
пенистые клетки	82 +17	39 *	71	59	38 *
моноциты	182 +34	126 +54	213 +48	47 *	186 +40
лимфоциты	5074 +960	4133 +570	6097 +725	437 +66 *	2551 +317 *

Значительны и сдвиги, происшедшие в белой крови рыб. В периферической крови при ихтиофтириозе появились бластные формы (табл. 1). Во много раз увеличилось число промиелоцитов и молодых форм нейтрофилов — миелоцитов. Количество нейтрофилов старших возрастных групп по мере течения болезни уменьшалось, а у рыб группы 1в сегментоядерные нейтрофилы отсутствовали. Прогрессировала абсолютная нейтропения. Содержание пенистых клеток увеличилось у рыб группы 1а, а затем уменьшилось. У больных рыб снизилось

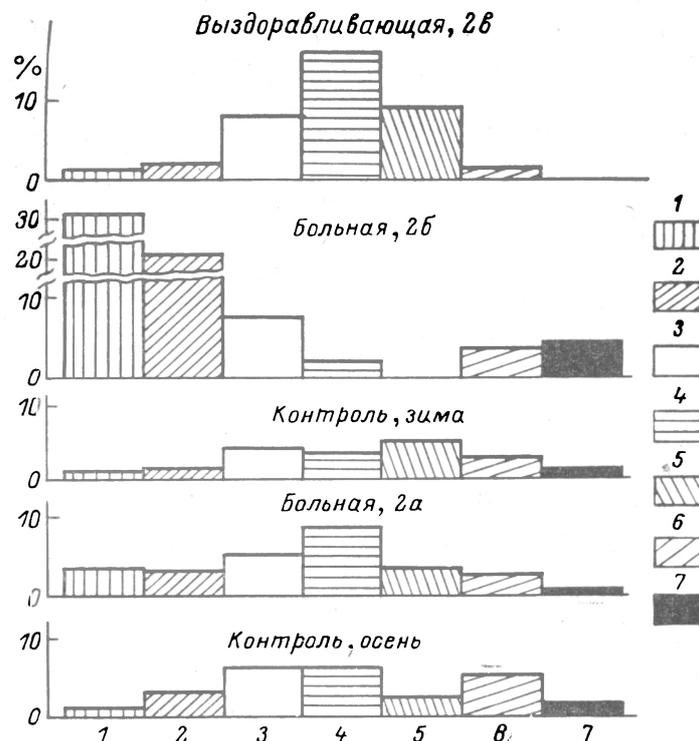


Рис. 3. Динамика доли миелоидных форм в лейкоцитарной формуле при ихтиофтириозе. 1 — промиелоциты; 2 — миелоциты нейтрофильные; 3 — метамиелоциты нейтрофильные; 4 — палочко-ядерные нейтрофилы; 5 — сегментоядерные нейтрофилы; 6 — эозинофилы и псевдоэозинофилы; 7 — пенистые клетки.

количество моноцитов и особенно сильно — лимфоцитов, в связи с чем наблюдалась лейкопения.

В пруду при сравнительно небольшой интенсивности инвазии рыб (группа 2а) в крови достоверно увеличилось лишь число промиелоцитов (табл. 2). При длительном течении инвазии и высоких показателях заражения изменены все параметры белой крови (группа 2б). Картина ее на этой стадии характеризовалась теми же особенностями, что и у рыб группы 1в при опытах в аквариумах (рис. 3). У выздоравливающих рыб (группа 2в) содержание младших возрастных форм нейтрофилов возвратилось к норме, в то время как количество палочко-ядерных и сегментоядерных нейтрофилов сильно увеличилось. Наблюдалась абсолютная нейтрофилия. Число лимфоцитов хотя и увеличилось по сравнению с рыбами группы 2а, нормы еще не достигло. Как в аквариальных условиях, так и в пруду число эозинофилов у больных рыб было ниже, чем в контроле.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение гематологических параметров сеголеток большеротого буффало при ихтиофтириозе выявило изменения как в красной, так и в белой крови. Реакция красной крови на инвазию в аквариальных опытах и в пруду оказалась различной: в первом случае отмечалось возрастание гематологических показателей, во втором — анемия. Большинство авторов, изучавших изменения содержания гемоглобина в крови при ихтиофтириозе, отмечают уменьшение

его концентрации у больных рыб (Бауер, 1955; Решетникова, 1962; Головина и др., 1977; Магеррамова, 1977; Рыжова, 1979). В то же время Решетникова указывает, что степень снижения содержания гемоглобина зависит от интенсивности заражения рыб паразитом и продолжительности заболевания. Наконец, Хайнес и Спира (1974), использовавшие для заражения здоровых, упитанных карпов, выявили повышение концентрации гемоглобина в крови сильно зараженных рыб. Очевидно, состояние рыб перед болезнью играет решающую роль в реакции красной крови на заболевание. Нами, так же как и Хайнесом и Спирой, для опытов в аквариумах были взяты здоровые упитанные рыбы. Продолжительность инвазии соответствовала длительности цикла развития ихтиофтириуса. Известно, что при ихтиофтириозе нарушается кожное и жаберное дыхание рыб (Хайнес, Спира, 1974). Выброс эритроцитов представляется в этих условиях закономерной реакцией как на гипоксию, так и на действие стрессора (в данном случае, паразита). При длительной тяжелой болезни (группа 2б), когда ресурсы кровяных депо исчерпаны, у рыб наблюдается сильная анемия, которую обычно и регистрируют у истощенных рыб при зимнем ихтиофтириозе.

Наиболее характерными изменениями белой крови при ихтиофтириозе буффало оказались: абсолютная лейкопения за счет главным образом лимфопении, сдвиг нейтрофильного ряда влево, значительное увеличение в периферической крови числа промиелоцитов. Большинство авторов для характеристики изменений белой крови применяли лейкоцитарную формулу, дающую лишь представление о процентном соотношении форм лейкоцитов, и пользовались классификацией форменных элементов, предложенной Пучковым (1941). Это делает несравнимыми наши результаты с ранее полученными. Наиболее близки в методическом плане работы Хайнеса и Спиры (1973) и Головиной (1978), дифференцировавших нейтрофилы по стадиям развития. Выявленные в первой работе реакции крови на заболевание (лимфопения, нейтрофилия, левый сдвиг нейтрофильного ряда) совпадают с обнаруженными нами. Головиной при летнем ихтиофтириозе карпа зарегистрирован абсолютный лейкоцитоз за счет увеличения числа лейкоцитов всех форм. Вероятно, различия с полученными нами данными связаны с активизацией лейкопоза у карпов в летний период. Снижение в периферической крови числа фагоцитирующих клеток — палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, моноцитов и иммунокомпетентных — лимфоцитов связано, по всей видимости, с их миграцией к пораженным тканям. То же, вероятно, происходит с эозинофилами. Достоверное увеличение числа старших возрастных групп нейтрофилов у выздоравливающих рыб (группа 2в) является следствием дозревания выброшенных в кровяное русло в период пика болезни промиелоцитов и нейтрофильных миелоцитов. Последняя реакция может быть использована для диагностики перенесенного заболевания. Функции пенистых клеток буффало нуждаются в уточнении. Значительные колебания их числа свидетельствуют об участии этих форм в защитных реакциях организма рыб.

Изменения морфологии лейкоцитов при ихтиофтириозе были выявлены Головиной (1976), которая связывает этот процесс с нарушением внутриклеточного метаболизма. Панасенко (1977) объясняет неравномерность окраски цитоплазмы лейкоцитов изменением обмена нуклеотидов при заболевании. Хайнес и Спира указывают, что ихтиофтириус не выделяет каких-либо токсинов. В то же время Конради-Кондрашов и Висманис (1978) отмечают токсическое воздействие на рыб фермента гиалуронидазы, выделяемого паразитом. Очевидно, нарушения морфологии лейкоцитов, наблюдаемые при ихтиофтириозе, связаны именно с интоксикацией организма рыб.

Таким образом, наблюдающиеся в красной и белой крови буффало при ихтиофтириозе изменения являются реакцией рыб на поражение, возникающее в результате нарушений кожного и жаберного дыхания, осморегуляции, а также прямого воздействия паразита на рыбу посредством выделяемых им токсинов.

Л и т е р а т у р а

- Бауер О. Н. Ихтиофтириус в прудовых хозяйствах и меры борьбы с ним. — Изв. ВНИОРХ, 1955, т. 36, с. 184—223.
- Головацкий И. Д., Авдосьев Б. С. Некоторые биохимические показатели тканей карпа при ихтиофтириозе. — В кн.: Тез. докл. 7-го Всес. совещ. по паразитам и болезням рыб. Л.: Наука, 1979, с. 24—25.

- Г о л о в и н а Н. А. Морфологический анализ клеток крови карпа при заражении *Ichthyophthirius multifiliis*. — В кн.: Матер. 2-го Всес. съезда протозоологов. Ч.1. Киев, 1976, с. 38—39.
- Г о л о в и н а Н. А. Использование лейкоцитарного профиля для оценки лейкоцитоза рыб. — Тр. ВНИИПРХ, 1978, т. 27, с. 65—72.
- Г о л о в и н а Н. А. Методы гематологических исследований в ихтиопатологической практике. — Экспресс-информация ЦНИИТЭИРХ. Сер. 8, 1979, вып. 4, с. 8—18.
- Г о л о в и н а Н. А., П о д д у б н а я А. В., М а н к и р о в а В. В. Влияние некоторых заболеваний карпа на гематологические показатели. — Вестн. зоол., 1977, № 5, с. 29—33.
- И в а н о в а Н. Т. Материалы к морфологии крови рыб. Ростов-на-Дону, 1970. 136 с.
- К о м а р о в а Т. И. Влияние паразитирования ихтиофтириуса на рост, упитанность и выживаемость молоди сазана. — В кн.: Проблемы паразитологии. Ч. 1. Киев, 1975, с. 242—243.
- К о м а р о в а Т. И. Паразиты молоди рыб Кременчугского водохранилища и их влияние на организм хозяев. Киев, Наук. думка, 1982. 223 с.
- К о н р а д и - К о н д р а ш о в М. А., В и с м а н и с К. О. Динамика щелочной и кислой фосфатаз у лососевых при различных заболеваниях. — Тр. ВНИИПРХ, 1978, т. 27, с. 87—94.
- М а г е р р а м о в а Э. С. Гематологические показатели при ихтиофтириозе молоди каспийского лосося. — В кн.: Тез. докл. научн. конф., посв. 75-летию со дня основания Азерб. научн.-исслед. вет. ин-та. Баку, 1977, с. 128—129.
- П а н а с е н к о В. В. Изменение количества свободных аминокислот у карпов при ихтиофтириозе. — В кн.: Болезни рыб и меры борьбы с ними. Алма-Ата, 1977, с. 134—137.
- П у ч к о в Н. В. Физиология рыб. М.: Пищепромиздат, 1941. 298 с.
- Р е ш е т н и к о в а А. В. Об изменении крови сазана при заражении ихтиофтириусом. — Науч.-техн. бюлл. ГосНИОРХ, 1962, № 15, с. 71—73.
- Р ы ж о в а Л. Н. Картина крови хариуса при заражении ихтиофтириусом. — В кн.: Зоопаразитология бассейна озера Байкал. Улан-Удэ, 1979, с. 129—133.
- H i n e s R. S., S p i r a D. T. Ichthyophthiriasis in the mirror carp. II. Leucocyte response. — J. Fish Biol., 1973, vol. 5, N 4, p. 527—534.
- H i n e s R. S., S p i r a D. T. Ichthyophthiriasis in the mirror carp, *Cyprinus carpio* (L.). IV. Physiological dysfunction. — J. Fish Biol., 1974, vol. 6, N 4, p. 365—371.
- N i g r e l l i R. F., P o k o r n y K. S., R u g i e r r y G. D. Notes on *Ichthyophthirius multifiliis*, a ciliate parasitic on fresh-water fishes, with some remarks on possible physiological races and species. — Trans. Amer. Microsc. Soc., 1976, vol. 95, N 4, p. 607—613.

Молдавская научно-исследовательская
рыбохозяйственная станция,
Кишинев

Поступило 27 IV 1983

CHANGES IN THE BLOOD PARAMETERS OF BIG-MOUTHED BUFFALO ICTIOBUS
CYPRINELLUS DURING ITS INFECTION WITH ICHTHYOPHTHIRIUS MULTIFILIIS
(CILIATA, OPHRYOGLENIDAE)

I. D. Trombitsky

S U M M A R Y

The paper reports new data on morphological content and blood parameters of big-mouthed buffalo at its infection with *I. multifiliis*. Identification of leukocytes was done according to the classification suggested by N. T. Ivanova. Absolute lymphopenia, abundant promyelocytes in peripheral blood, shift to the left of the neutrophilic series, changes in the morphology of blood cells were observed during the disease.