



УДК 636.5:611.4:619:616.98.578

**А.С. АЛИЕВ**, докт. вет. наук, профессор  
**М.В. БУРЛАКОВ**, аспирант  
 ФГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины  
**И.Н. ГРОМОВ**, канд. вет. наук, доцент  
**М.К. СЕЛИХАНОВА**, аспирант  
 УО Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины

**К.В. ЗИМИН**, гл. вет. врач  
 ООО «Биотехагро», г. Тимашевск,  
 Краснодарский край, Россия

## КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЦИРКОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ ПТИЦ

*Диагностику инфекционных болезней птиц необходимо проводить комплексно, с учетом эпизоотической обстановки, клинических признаков, результатов патолого-анатомического вскрытия и лабораторных исследований.*

**В** этом комплексе патоморфологические данные нередко имеют решающее значение, как, например, при лейкозе, болезни Марека, туберкулезе и др. Кроме того, патолого-анатомические и гистологические изменения позволяют быстро поставить предварительный диагноз, что важно для организации и проведения профилактических мероприятий, и наметить направление дальнейших лабораторных исследований.

В имеющихся изданиях крайне скудно освещены аспекты патолого-анатомической диагностики новых и малоизученных болезней птиц, к которым можно отнести инфекционную анемию. Впервые болезнь зарегистрировали в Японии в 1979 г. В настоящее время вспышки инфекционной анемии отмечают во многих странах с развитым птицеводством [1, 3]. Результаты исследований В.А. Лобанова и др. [7] свидетельствуют о широком распространении вируса инфекционной анемии цыплят в птицеводческих хозяйствах Российской Федерации, Украины и Республики Беларусь. В крупных хозяйствах промышленного типа инфекционная анемия наносит значительный экономический ущерб, обусловленный гибелью птицы, низкими приростами и оплатой корма, снижением катего-

рийности тушек, повышенной выбраковкой, расходами на лечение и проведением соответствующих ветеринарно-санитарных мероприятий [1].

В отечественной и зарубежной литературе недостаточно сведений о патоморфологических изменениях во внутренних органах цыплят при спонтанном и экспериментальном течении болезни. Патоморфологические данные охватывают незначительный срок наблюдения и многие аспекты их носят противоречивый характер и требуют более детальных исследований.

**Цель работы** – изучение клинических признаков и патоморфологических изменений у цыплят при спонтанном и экспериментальном заражении вирусом инфекционной анемии.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Спонтанную цирковиральную инфекцию изучали на больных цыплятах и трупах птиц 1–20-дневного возраста. Ежедневно проводили клинический осмотр поголовья, вскрывали трупы павших и вынужденно убитых птиц, отбирали материал для лабораторных исследований (вирусологического, ПЦР, гистологического и т. д.).

Экспериментальную инфекцию изучали на СПФ-цыплятах суточного возраста, подобранных по принципу аналогов и разделенных на две группы по 15 гол. в каждой. Цыплят первой группы в суточном возрасте внутримышечно заражали вирулентным штаммом вируса инфекционной анемии. Вирусосодержащим материалом служил стерильный 20% гомогенат печени спонтанно больных бройлеров, обработанный по общепринятой методике. Интактные цыплята второй группы



© А.С. Алиев, М.В. Бурлаков, И.Н. Громов, М.К. Селиханова, К.В. Зимин, 2012



служили контролем. За всей птицей установили клиническое наблюдение, и на 21-й день после заражения цыплят убивали для проведения морфологических исследований. Для этого отбирали пробы крови, кусочки трубчатых костей, тимуса, бursy Фабриция и селезенки.

Кусочки органов фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и 96 % этиловом спирте, затем материал уплотняли путем заливки в парафин по общепринятой методике [9]. Кусочки костной ткани предварительно декальцинировали в 10 % растворе уксусной кислоты. Обезвоживание и парафинирование материала проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей MICROM STP 120 (Германия) типа «Карусель». Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию MICROM EC 350. Гистологические срезы делали на ротаторном (маятниковом) микротоме MICROM HM 340 E.

При изучении общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилином и эозином [6, 9, 10]. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции MICROM HMS 70. Для обнаружения коллагеновых и эластических волокон гистологические срезы окрашивали по Маллори и Гейденгайну [6, 9], используя фосфорномолибденовую и фосфорновольфрамовую кислоты, а для гистохимического выявления нуклеиновых кислот – метиловый зеленый – пиронин по Браше [6, 8].

При изучении гистологических срезов костного мозга учитывали характер структурных изменений, подсчитывали число клеток различных ростков кроветворения. Миелограмму выводили, исходя из подсчета 1000 клеток в мазках, окрашенных по Романовскому–Гимзе [4]. При подсчете костномозговых клеток придерживались унитарной теории кроветворения, дополненной И.А. Болотниковым и Ю.В. Соловьевым [2].

Наряду с оценкой миелограммы

выводили парциальные формулы разных групп клеток костного мозга [4, 5]:

– лейкоэритробластический индекс – соотношение костномозговых элементов лейкоцитарного и эритроцитарного ростков;

– костномозговой индекс созревания псевдоэозинофилов – отношение молодых клеток псевдоэозинофильной группы (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) к зрелым псевдоэозинофилам (палочкоядерные, сегментоядерные);

– костномозговой индекс созревания эозинофилов – соотношение молодых (промиелоциты, миелоциты, метамиелоциты) и зрелых (палочкоядерные, сегментоядерные) клеток эозинофильной группы;

– костномозговой индекс созревания эритроноормобластов – отношение числа гемоглобинизированных форм нормоцитов (полихроматофильные нормоциты) к количеству всех клеток эритроидного ряда.

Для оценки изменений в органах иммунной системы птиц определяли содержание лимфо- и плазмобластов, незрелых и зрелых плазмочитов, митозов, подсчитывали общее количество клеточных элементов. Иммунокомпетентные клетки подсчитывали в 50 полях зрения микроскопа (объектив  $\times 100$ , окуляр  $\times 10$ , бинокуляр  $\times 1,5$ ).

На гистологических срезах тимуса и бursy Фабриция определяли абсолютные размеры коркового и мозгового вещества долек тимуса и лимфоидных узелков бursy Фабриция (объектив  $\times 8$ , окуляр  $\times 10$ , бинокуляр  $\times 1,5$ ). Затем вычисляли соотношение этих величин. Для измерений использовали компьютерные программы ScopePhoto и ImageScore-M. На гистологических срезах селезенки определяли количество и размеры лимфоидных узелков, вычисляли удельные объемы и соотношение красной и белой пульпы.

Гистологические исследования проводили с помощью светового микроскопа OLYMPUS BX51 (Япония). Полученные данные документировали микрофотографированием с использованием цифровой системы считывания и вво-

да видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения ScopePhoto.

Цифровые данные обрабатывали статистически на основе программы Microsoft Excel 2003.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Инфекционная анемия цыплят (ИАЦ) в птицеводческих хозяйствах России, как правило, протекает субклинически. Клиническую форму ее регистрируют крайне редко. Основные клинические признаки при естественном течении ИАЦ у цыплят-бройлеров в 14-дневном возрасте характеризуются общим угнетением, отказом от корма, бледностью слизистых оболочек и кожи. Подкожные, внутрикожные и внутримышечные кровоизлияния различных форм и размеров наблюдали в области груди, бедра, голени, брюшины и на внутренней стороне крыльев. Здесь же регистрировали серозно-геморрагические отеки подкожной клетчатки. На плюсне и подошве лап отмечали подкожные геморрагии и язвенно-некротические поражения. Из пораженных участков кожи выделялся кровянисто-серозный трансудат. Продолжительность болезни составила 7–10 суток, летальность по отдельным группам – 7–10 %. Максимальный отход отмечали на 3–4-й день с начала появления симптомов ИАЦ. Заболевание наблюдали в первых партиях цыплят-бройлеров, полученных от серонегативных к вирусу ИАЦ и не привитых родителей. В последующих партиях клинические симптомы не регистрировали. Принято считать, что острое течение инфекции среди молодняка раннего возраста связано с тем, что родители переболели на начальной стадии или на пике яйцекладки и с вертикальной передачей возбудителя потомству.

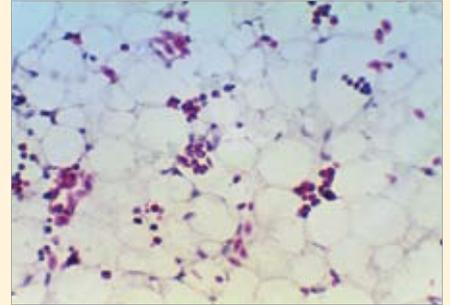
Клинические признаки болезни у СПФ-цыплят, экспериментально зараженных в суточном возрасте, были аналогичны наблюдаемому в условиях хозяйств, за исключением подкожных



**Рис. 1.** Подкожные кровоизлияния с медиальной стороны крыла при инфекционной анемии у цыпленка



**Рис. 2.** Очаговый гангренозный дерматит тазовых конечностей цыпленка при инфекционной анемии



**Рис. 3.** Атрофия кроветворных островков в костном мозге цыплят после заражения цирковирусом

кровоизлияний в разных участках тела. Первые симптомы болезни экспериментально инфицированной птицы регистрировали на 15-е сутки опыта. Зараженные цыплята отставали в росте и развитии на 20%. Смертность была невысокая – 2%.

У павших птиц отмечали признаки гидремии и общей анемии. Кровь была разжижена, имела светло-красный цвет, плохо свертывалась. Внутренние органы, слизистые оболочки и серозные покровы выглядели бледными. В то же время в коже брюшной стенки, тазовых конечностей и медиальной поверхности крыльев наблюдали застойную гиперемию и нарастающий серозный отек. Часто в этих участках выявляли подкожные кровоподтеки и точечные кровоизлияния (рис. 1). Отмечены также серозные отеки и диффузные геморагии в перимизии грудных мышц.

При осложнении болезни бактериальными инфекциями в коже голени и пальцев развивались глубокие некрозы и сухая гангрена (рис. 2). Макроскопически гангренозные участки были утолщены, твердые, бугристые, бурно-черного цвета.

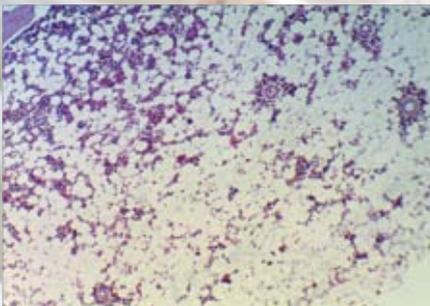
В костном мозге больных птиц гистологически регистрировали признаки атрофии кроветворной ткани. При этом кроветворные островки были представлены лишь небольшими группами или диффузными скоплениями, которые локализовались вокруг синусоидных капилляров и артериол (рис. 3). Характерные полноценные кроветворные островки выявляли крайне редко. Основные структурные изменения со стороны гемопозитических элементов регистрировали чаще в центральной части органа и значительно реже – в пространствах под периостом (рис. 4).

Наряду с процессами аплазии эритроидного и гранулоцитарного кроветворения в костном мозге большинства подопытных птиц отмечали выраженную гиперплазию клеток лимфоидного ряда. Крупноочаговые скопления лимфоцитов различной степени зрелости визуализировались в периферической части органа непосредственно под периостом. Указанные изменения носили, скорее всего, компенсаторно-приспособительный характер.

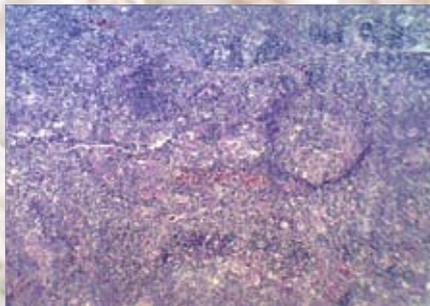
В миелограмме цыплят опытной группы достоверно уменьшалось в 1,3 раза общее количество гранулоцитов по сравнению с контролем. Данный показатель изменялся в основном за счет клеток псевдоэозинофильного ряда.

Общее количество эритробластических клеток в миелограмме подопытных птиц снижалось с  $47,00 \pm 1,18\%$  (контроль) до  $33,15 \pm 1,24\%$  ( $P < 0,001$ ), а число лимфоцитов, наоборот, увеличивалось в 2 раза ( $P < 0,01$ ). В костном мозге птиц опытной группы уменьшился лейкоэритробластический индекс в 1,8 раза ( $P < 0,01$ ), а также индексы созревания эозинофилов в 1,4 раза ( $P < 0,05$ ) и псевдоэозинофилов в 1,3 раза ( $P > 0,05$ ) по сравнению с контрольными значениями. Указанные изменения являются показателем аплазии клеток гранулоцитарного ростка под воздействием цирковируса.

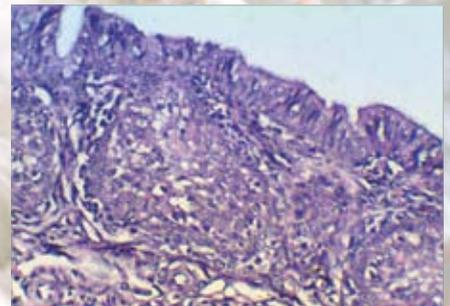
При микроскопическом исследовании тимуса цыплят на 21-й день эксперимента размеры коркового вещества долек по сравнению с контролем достоверно снижались в 1,6 раза. У отдельных птиц происходила почти полная



**Рис. 4.** Признаки аплазии миелоидной ткани в костном мозге цыплят после заражения вирусом инфекционной анемии



**Рис. 5.** Выявленная делимфатизация коркового вещества долек тимуса птиц после заражения цирковирусом



**Рис. 6.** Атрофия лимфоидных узелков бурсы Фабриция цыплят после заражения цирковирусом



потеря коркового вещества, представленного лишь островками лимфоцитов на периферической части долек (рис. 5). В то же время среди элементов мозгового вещества часто выявляли очаговые лимфоидноклеточные пролифераты. Отмечено также значительное увеличение числа телец Гассалья в мозговом и корковом веществе.

Плотность тимоцитов на условную единицу площади в корковой и мозговой зоне долек тимуса у птиц опытной группы была на 55% ниже, чем в контроле ( $P < 0,05$ ). Удельные объемы стромы и паренхимы долек тимуса и их соотношение у цыплят первой и второй групп были примерно одинаковыми.

В бурсе Фабриция больных цыплят достоверно уменьшались в 1,2 раза размеры корковой зоны лимфоидных узелков по сравнению с контролем (рис. 6). При этом соотношение корковой и мозговой зон изменялось с  $0,74 \pm 0,05$  (контроль) до  $0,47 \pm 0,03$  ( $P < 0,01$ ). Плотность лимфоцитов на условную единицу площади в корковой зоне лимфоидных узелков у подопытных цыплят снижалась на 38% по отношению к контрольным показателям ( $P < 0,05$ ). В то же время удельные объемы элементов стромы и паренхимы изменялись незначительно. В бурсе Фабриция отдельных птиц отмечали обеднение лимфоцитами не только корковой, но и мозговой зоны лимфоидных узелков. В результате отдельные лимфоидные узелки принимали вид «пчелиных сот». На месте атрофированных лимфоидных узелков формировались микрокисты и псевдожелезистые структуры, не имеющие выводных протоков. Наряду с узелками в состоянии атрофии часто обнаруживали новообразованные лимфоидные фолликулы, отличающиеся высокой плотностью лимфоцитов и нечетким разделением корковой и мозговой зоны.

При изучении плазмочитарной реакции в бурсе Фабриция в этот срок у цыплят опытной группы число плазмобластов и плазмочитов различной степени зрелости увеличилось на 25–40% по сравнению с контрольной группой, однако различия были недостоверными.

Анализируя морфометрические показатели селезенки, установили, что у птиц контрольной группы соотношение белой и красной пульпы находилось в пределах  $0,44 \pm 0,05$ , а у подопытных –  $0,54 \pm 0,08$  ( $P < 0,05$ ). Одновременно в селезенке птиц опытной группы увеличивались число ( $P < 0,05$ ) и размеры ( $P > 0,05$ ) лимфоидных узелков по сравнению с контролем. У птиц опытной группы достоверно повышалось общее число плазмочитов (главным образом за счет увеличения количества бластных форм клеток) по сравнению с контрольными показателями в 1,2 раза.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Спонтанная цирковиральная инфекция характеризуется развитием у птиц гидремии и общей анемии, серозным отеком и кровоизлияниями в коже брюшной стенки, тазовых конечностей и медиальной поверхности крыльев, а при осложнении болезни бактериальными инфекциями – глубокими некрозами и сухой гангреней кожи голени и пальцев.

При экспериментальном заражении цыплят вирусом инфекционной анемии развиваются существенные гистологические изменения – атрофия кроветворных островков, достоверное уменьшение количества клеток эритроцитарного и гранулоцитарного рядов, снижение лейкоэритробластического индекса, а также индексов созревания эозинофилов и псевдоэозинофилов в костном мозге; уменьшение размеров и делимфатизация коркового вещества, увеличение числа и размеров телец Гассалья в мозговом и корковом веществе долек тимуса; сужение корковой зоны лимфоидных узелков, снижение плотности расположения лимфоцитов в ней, появление на месте атрофированных узелков микрокист и псевдожелезистых структур в бурсе Фабриция. Компенсаторно-приспособительные и регенерационные процессы характеризуются активизацией лимфоидного кроветворения в костном мозге, развитием очаговых лимфоидных пролифератов в мозговом веществе долек тимуса и новообразованных

лимфоидных узелков в бурсе Фабриция, расширением белой пульпы, увеличением числа лимфоидных узелков, а также усилением бласттрансформации лимфоцитов и плазматизации в селезенке.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Алиев А.С.** и др. Инфекционная анемия цыплят / А.С. Алиев и др. // Ветеринарная медицина. – 2011. – № 1. – С. 49–53.
2. **Болотников И.А.** Гематология птиц / И.А. Болотников, Ю.В. Соловьев. – Л.: Наука, 1980. – 115 с.
3. **Гусева Е.В.** Инфекционная анемия цыплят: Обзор литературы / Е.В. Гусева, Т.А. Сатина, Т.А. Фомина. – Владимир: ВНИИЗЖ, 1997. – 72 с.
4. **Карпуть И.М.** Гематологический атлас сельскохозяйственных животных / И.М. Карпуть. – Минск: Ураджай, 1986. – 183 с.
5. **Коленкин С.М.** Основные правила исследования пунктата костного мозга / С.М. Коленкин, А.И. Михеева // Клиническая лабораторная диагностика. – 1999. – № 2. – С. 41–43.
6. **Лилли Р.** Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли; пер. с англ. И.Б. Краснов / Под ред. В.В. Португалова. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
7. **Лобанов В.А.** и др. Серологический мониторинг инфекционной анемии цыплят и молекулярно-биологическая характеристика изолятов вируса / В.А. Лобанов // Вестник Рос. академии сельхоз. наук. – 2003. – № 2. – С. 66–69.
8. **Луппа Х.** Основы гистохимии / Х. Луппа; пер. с нем. И.Б. Бухвалова, Е.Д. Вальтер / Под ред. Н.Т. Райхлина. – М.: Мир, 1980. – 343 с.
9. **Меркулов Г.А.** Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 432 с.
10. **Саркисов Д.С.** и др. Микроскопическая техника: Руководство / Д.С. Саркисов и др. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.

**Clinical and morphological features of circovirus infection of birds.** A.S. Aliyev, M.V. Burlakov, I.N. Gromov, M.K. Selikhanova, K.V. Zimin

Diagnosis of infectious diseases of birds should be carried out comprehensively, with the epizootic situation, clinical signs, results of post-mortem autopsy and laboratory tests. ◉