



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, внутримошечные 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

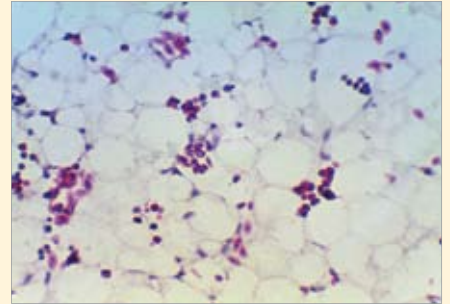


Рис. 3. Атрофия кроветворных островков в костном мозге цыплят после заражения цирковирусом

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

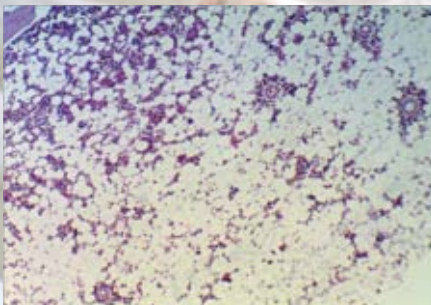


Рис. 4. Признаки аплазии миелоидной ткани в костном мозге цыплят после заражения вирусом инфекционной анемии

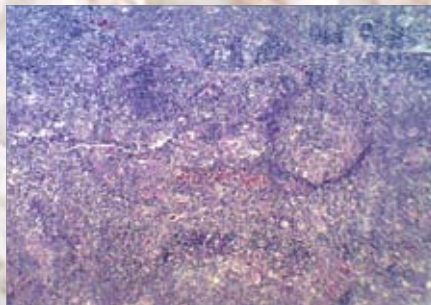


Рис. 5. Выраженная делимфатизация коркового вещества долек тимуса птиц после заражения цирковирусом

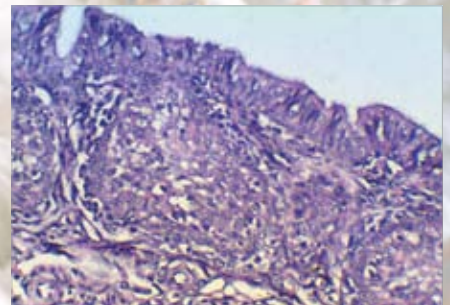


Рис. 6. Атрофия лимфоидных узелков бурсы Фабриция цыплят после заражения цирковирусом



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. ◉