



УДК 619:616.98-076:636.52/58

А.С. АЛИЕВ, докт. вет. наук, профессор**М.В. БУРЛАКОВ**, аспирант

ФГБОУ 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



АССОЦИАТИВНОЕ ТЕЧЕНИЕ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ ЦЫПЛЯТ И ИНФЕКЦИОННОЙ БУРСАЛЬНОЙ БОЛЕЗНИ

Рассмотрены особенности проявления инфекционной анемии при ассоциативном течении с инфекционной бурсальной болезнью. Показана роль морфологических методов исследования для диагностики моно- и ассоциативного течения инфекционной анемии цыплят.

В последнее время чрезвычайно актуальна проблема смешанных инфекций в промышленном птицеводстве в связи с возрастающей частотой выявления такой формы патологии. Смешанные вирусные и вирусно-бактериальные инфекции не только затрудняют постановку диагноза, но и заметно снижают эффективность проводимых противоэпизоотических мероприятий, нанося при этом существенный экономический ущерб птицеводческой индустрии [4, 9]. Выраженная полиэтиологичность, широко распространенная одновременная циркуляция возбудителей вирусной и бактериальной природы и их накопление во внешней среде, высокая концентрация птицы на ограниченной территории и конвейерная технология производства закономерно приводят к возникновению новых взаимоотношений между макро- и микроорганизмами, а также способствуют естественному пассированию микроорганизмов и усилению их патогенных свойств. Все это создает благоприятные условия для инфицирования организма птицы возбудителями нескольких инфекций [2–4, 6]. Однако взаимодействие их и вызываемые в организме птиц патологические процессы при ассоциированном течении до сих пор не изучены. Кроме того, в настоящее время имеются неполные и не систематизированные сведения по дифференциальной патоморфологической диагностике инфекционной анемии и других вирусных болезней.

Цель работы – изучить особенности проявления инфекционной анемии цыплят при ассоциативном течении с инфекционной бурсальной болезнью (ИББ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований служили сыворотки крови 8–30-дневных цыплят и патологический материал (трупы, кусочки органов), отобранные на птицефабриках мясного направления. Согласно анамнестическим данным в хозяйствах повысились заболеваемость и падеж птиц разных возрастных групп. Клинически у заболевших отмечали отставание в росте и развитии, взъерошенность перьевого покрова, апатию, общую анемию. Данные патолого-анатомического вскрытия: постовариальная гипотрофия, дистрофия печени и почек, острая венозная гиперемия легких, признаки анемии. В хозяйствах, откуда поступила павшая птица, проводили плановую профилактическую иммунизацию против болезни Марека и ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита и ИББ. Цыплята были получены от родителей, иммунизированных живой вакциной против инфекционной анемии цыплят (ИАЦ).

При вскрытии трупов учитывали характер и тяжесть патоморфологических изменений, оформляли патолого-анатомический диагноз. Для гистологического исследования отбирали кусочки трубчатых костей, тимуса, фабрициевой

бурсы, селезенки и печени. Полученный материал фиксировали в 10% растворе формалина, затем его уплотняли путем заливки в парафин по общепринятой методике, а также замораживали [7]. Обезвоживание и парафинирование материала проводили с помощью автомата для гистологической обработки тканей MICROM STP 120. Для заливки кусочков и подготовки парафиновых блоков использовали автоматическую станцию MICROM EC 350. Гистологические срезы кусочков органов, залитых в парафин, готовили на роторном микротоме MICROM HM 340 E. Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилином и эозином [5, 8].

Уровень специфических антител к вирусам инфекционной анемии и болезни Гамборо устанавливали с помощью ИФА (BioChek) согласно наставлениям к наборам диагностикумов.

Суммарную ДНК из гомогената органов выделяли методом фенол-хлороформной экстракции (pH 7,8) [10]. Количественно определяли ДНК возбудителя ИАЦ с помощью ПЦР в реальном времени на амплификаторе «АНК», используя «Набор для выявления вируса инфекционной анемии цыплят (количественный)» (ООО «Фрактал Био», г. Санкт-Петербург) в соответствии с инструкцией к набору.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Серологическое исследование показало, что максимальные значения средних титров антител к вирусу ИАЦ (величина, обратная разведению) регистрировали у 8-дневных цыплят



(2656). У 13-дневних птиц содержание антител к вирусу ИАЦ уменьшалось до уровня 1352, а в возрасте 20–30 суток – до 217–255. При изучении напряженности иммунитета к вирусу ИББ установили волнообразные изменения титров специфических антител. Так, у 8-суточных цыплят данный показатель составлял 4071, а в 14-дневном возрасте – лишь 1530. Значительное повышение титров специфических антител к вирусу ИББ (до уровня 4387–3566) регистрировали у 19- и 29-дневных цыплят.

Анализ количества положительно реагирующей птицы в зависимости от возраста показал, что у 19-дневного молодняка процент серопозитивных проб к вирусу болезни Гамборо был самым низким (40%), так же как и к вирусу ИАЦ (рис. 1). Ранее сообщалось, что в стационарно неблагополучных птицеводствах цыплята-бройлеры этого возраста чаще заражаются полевым вирусом болезни Гамборо [1]. Подтверждением служит характер морфологических изменений в фабрициевой сумке птицы 20- и 30-дневного возраста.

Анализ данных ПЦР по выявлению генома вируса ИАЦ свидетельствует, что результаты во многом зависят от характера биоматериала и возраста исследуемой птицы (см. таблицу). Наиболее высокий уровень генома вируса ИАЦ, как и процент его обнаружения, установлен в пробах тимуса – $10,5 \pm 0,34$ lg/g (100%) и фабрициевой сумки – $10,5 \pm 0,28$ lg/g (90%) у 30-суточных бройлеров. В об-

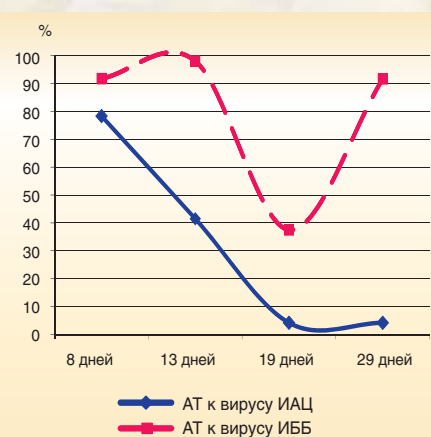


Рис. 1. Процент положительных проб сывороток крови птиц в ИФА к вирусам ИАЦ и ИББ

Таблица – Концентрация генома вируса ИАЦ в разных органах цыплят-бройлеров, lg/g ткани

Возраст, суток	Количество птиц	Тимус	Селезенка	Фабрициева сумка	Печень
9	10	$\frac{4,5 \pm 0,24}{60,0}$	$\frac{4,5 \pm 0,54}{30,0}$	$\frac{5,5 \pm 0,46}{40,0}$	$\frac{4,0 \pm 0,42}{30,0}$
14	10	$\frac{4,5 \pm 0,40}{40,0}$	$\frac{4,0 \pm 0,4}{10,0}$	$\frac{4,0 \pm 0,34}{20,0}$	$\frac{4,0 \pm 0,4}{10,0}$
20	10	$\frac{6,0 \pm 0,12}{80,0}$	$\frac{5,5 \pm 0,18}{60,0}$	$\frac{5,5 \pm 0,14}{70,0}$	$\frac{5,5 \pm 0,28}{50,0}$
30	10	$\frac{10,5 \pm 0,34}{100,0}$	$\frac{7,0 \pm 0,42}{80,0}$	$\frac{10,5 \pm 0,28}{90,0}$	$\frac{6,0 \pm 0,15}{40,0}$

Примечание: в числителе – концентрация генома вируса ИАЦ; в знаменателе – процент выявления

разцах биоматериала от 9-суточных цыплят исследуемые показатели во всех органах были минимальные. Так, концентрация генома вируса ИАЦ в пробах фабрициевой сумки не превышала $5,5 \pm 0,46$ lg/g, а количество положительных образцов составило 40%. Чаще геном вируса у цыплят этого возраста выявляли в пробах тимуса (60%), тогда как количество положительных проб в печени составляло не более 50%. Затем по уровню и проценту выявления следуют пробы фабрициевой сумки и селезенки. Наиболее высокий процент обнаружения генома вируса ИАЦ установлен в тимусе независимо от возраста исследуемой птицы (60–100%).

Осмотр трупов и вынужденно убитых птиц в 100% случаев показал атрофию и ожирение долек тимуса, атрофию и склероз фабрициевой сумки. Примерно у 30% птиц находили бурсальные кисты, заполненные слизеподобным, чаще прозрачным и реже красноватым содержимым.

При гистологическом исследовании органов и тканей больных цыплят разновозрастных групп выявляли признаки латентного течения инфекционной анемии с наслоением в 20–30-дневном возрасте инфекционной бурсальной болезни.

В костном мозге цыплят всех возрастных групп морфологических изменений не установили. При изучении тимуса 9-дневных цыплят в 50% случаев регистрировали признаки акцидентальной инволюции: резкое уменьшение размеров долек, выраженная делимфатизация коркового вещества (граница между корковым и мозговым веществом нечеткая), увеличение числа телец Гассалья в корковом и мозговом

веществе (рис. 2). В бурсе Фабриция 60–70% птиц наблюдали истончение складок слизистой оболочки, значительное уменьшение размеров лимфоидных узелков с резким утолщением межузелковых перегородок, уменьшение плотности расположения лимфоцитов в узелках, выраженную инфильтрацию интерстициальной ткани лимфоцитами, гистиоцитами, в меньшей степени – эозинофилами. У многих цыплят к 9-дневному возрасту развивалась выраженная делимфатизация белой пульпы селезенки, особенно в подкапсулярных пространствах, с обнажением ретикулярной ткани. Нередко выявляли признаки некроза, лизиса и петрификации лимфоидных узелков (рис. 3). Указанные изменения характерны для латентного течения ИАЦ. В печени цыплят выявляли выраженную зернистую и мелкокапельную жировую дистрофию с набуханием цитоплазмы и ядер гепатоцитов, венозную гиперемию, отек, умеренную лимфоцитарную инфильтрацию, слабовыраженный гемосидероз, в отдельных гепатоцитах – внутриядерные базо- и оксифильные тельца-включения.

В тимусе 14-дневных цыплят происходили расширение мозгового вещества долек, истончение и деструкция коркового вещества, нередко выраженная атрофия органа с явлениями организации и ожирения (рис. 4). В красной пульпе селезенки отдельных птиц наблюдали ареактивные микронекрозы.

В печени цыплят отмечали тотальную зернистую и мелкокапельную жировую дистрофию с явлениями некробиоза и лизиса гепатоцитов, диффузную инфильтрацию печеночных долек лимфоцитами, лимфоидно- макрофа-

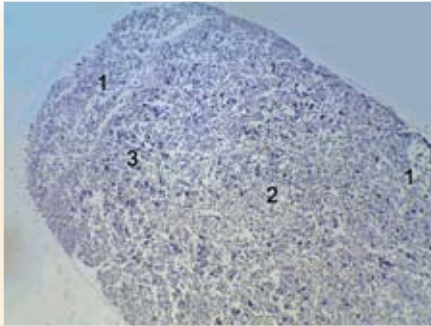


Рис. 2. Тимус 9-дневного цыпленка: 1 – делимфатизация коркового вещества долек; 2 – увеличение числа телец Гассала. Гематоксилин и эозин, ×120

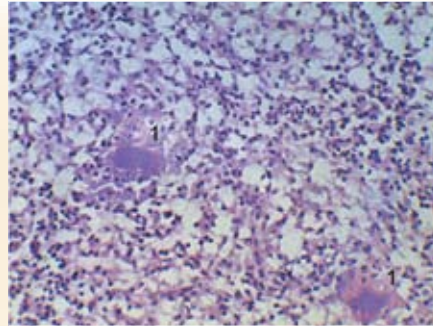


Рис. 3. Некроз и петрификация лимфоидных узелков (1) в селезенке 9-дневного цыпленка. Гематоксилин и эозин, ×480

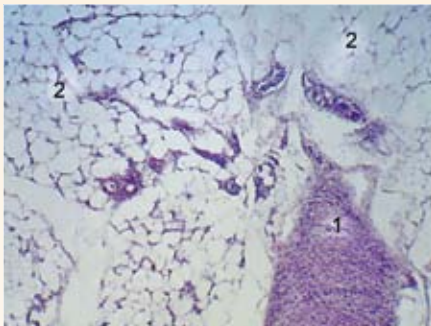


Рис. 4. Атрофия тимуса 14-суточного цыпленка: 1 – с явлениями организации; 2 – ожирения. Гематоксилин и эозин, ×120

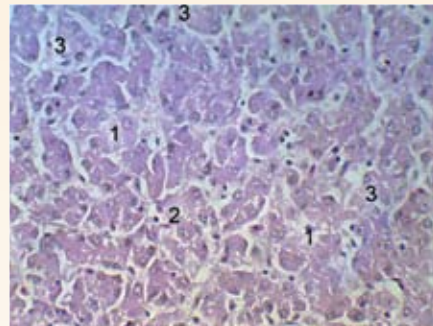


Рис. 5. Печень цыпленка 14-дневного возраста: 1 – жировая дистрофия гепатоцитов; 2 – некроз и лизис клеток; 3 – внутриядерные тельца-включения. Гематоксилин и эозин, ×480

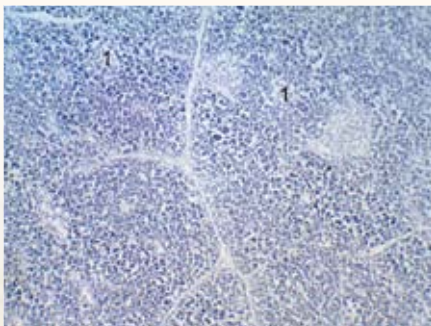


Рис. 6. Гиперплазия коркового вещества долек тимуса 20-дневного цыпленка (1). Гематоксилин и эозин, ×120

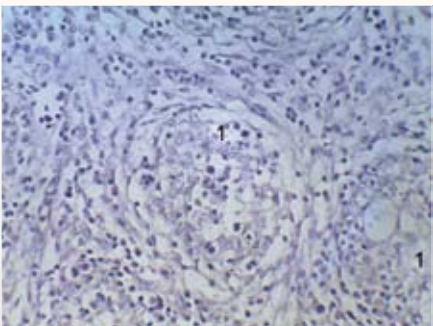


Рис. 7. Бурса Фабриция 20-дневного цыпленка: 1 – появление структур типа «пчелиных сот». Гематоксилин и эозин, ×480

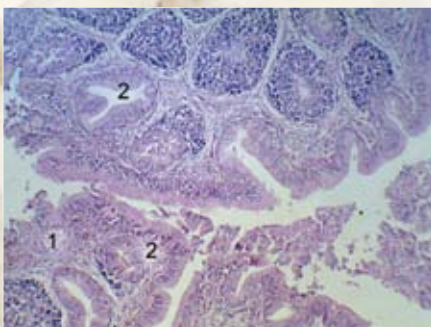


Рис. 8. Фабрициева бурса цыпленка 20-дневного возраста: 1 – выражены процессы организации; 2 – появление желез на месте лимфоидных узелков. Гематоксилин и эозин, ×120

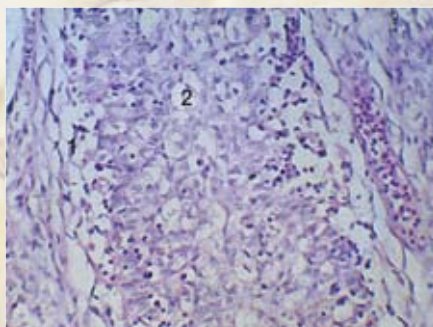


Рис. 9. Делимфатизация корковой (1) и мозговой зон (2) лимфоидных узелков в фабрициевой бурсе 30-дневного цыпленка. Гематоксилин и эозин, ×480

гальные и эозинофильные гранулемы в строме и паренхиме. В этот и последующие сроки исследований в отдельных гепатоцитах выявляли внутриядерные базо- и оксифильные тельца-включения (рис. 5).

К 20-дневному возрасту в тимусе большинства цыплят-бройлеров регистрировали выраженную гиперплазию с резким расширением коркового вещества (рис. 6). На наш взгляд, этот процесс имел компенсаторно-приспособительное значение. В бурсе Фабриция развивались изменения, характерные для подострого и хронического течения ИББ: делимфатизация корковой и особенно мозговой зон лимфоидных узелков с обнажением ретикулярной и эпителиальной основы в виде «пчелиных сот» (рис. 7). Также были выражены отек и лимфоцитарная инфильтрация стромы, явления кариорексиса, большое количество апоптозных телец в лимфоидных узелках. У 50% птиц отмечали процессы организации с расширением межузелковых перегородок (рис. 8). В подэпителиальных пространствах на месте узелков появлялись множественные микрокисты и железистые структуры. В печени цыплят в этот срок исследований наблюдали тяжелые гистологические изменения: тромбоз синусоидных капилляров, некроз и лизис большинства гепатоцитов с кариорексисом, набухание купферовских клеток, выраженный гемосидероз.

В 30-дневном возрасте, как и в предыдущий срок исследований, в тимусе цыплят регистрировали выраженную гиперплазию лимфоцитов с расширением коркового вещества долек. Мозговое вещество порой не визуализировалось. В фабрициевой бурсе отмечали тотальный апоптоз лимфоцитов, лизис клеток с обнажением ретикулоэпителиальной основы лимфоидных узелков, появление структур типа «пчелиных сот» (рис. 9). Нередко в узелках локализовались очаги коагуляционного некроза. У отдельных птиц наблюдали выраженную организацию собственной пластинки слизистой оболочки. Гистологические изменения в селезенке птиц характеризовались различной



ступеню тяжести. У одних птахів виявляли каріорексис ядер окремих лимфоцитів, апоптозные тельця в белій пульпе. В інших випадках відзначали ознаки делімфатизації з наявністю окремих неактивних мікронекрозів в червоній пульпі.

Домінуючі ознаки, характерні для вірусів ІАЦ і хвороби Гамборо при їх коінфекції, не установлені. Але на відкритті, особливо при гистологічному дослідженні органів і тканин хворих цыплят різновікових груп, виявлені суттєві ознаки, свідчать про наявність латентного перебігу інфекційної анемії з наслідком в 20–30-денному віці вірусу хвороби Гамборо.

Таким чином, спонтанне зараження вакцинованих цыплят цирковирусами призводить до розвитку важкого комбінованого придбаного імунodefіциту, на фоні якого домінують морфологічні ознаки інфекційної бурсальної анемії. В разі такої асоціації інфекційна анемія протікає латентно або з ознаками патоморфоза, без розвитку характерних гистологічних змін в кістковій мозку, а вакцинація хвороби Гамборо виявляється малоєфективною.

Розвиток в 20–30-денному віці лимфоїдної гіперплазії в тимусі, ви-

раженої лимфоїдно-макрофагальної інфільтрації неімунних органів, є, на наш погляд, компенсаторно-адаптивним процесом, спрямованим на формування специфічного імунітету до вірусу ІАЦ.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Морфологічне дослідження є важливим і необхідним при діагностиці ІАЦ, протікаючої як в формі моноінфекції, так і в асоціації з іншими вірусними хворобами.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. **Алиев А.С.** Інфекційна бурсальна хвороба птахів / А.С. Алиев. – СПб.: НИИЭМ ім. Пастера, 2010. – 208 с.
2. **Алиев А.С.** Цирковірусна інфекція птахів / А.С. Алиев, М.В. Бурлаков, К.В. Зимин і др. // Ветеринарія. – 2011. – № 9. – С. 27–32.
3. **Гусева Е.В.** Інфекційна анемія цыплят: огляд літератури / Е.В. Гусева, Т.А. Сатина, Т.А. Фомина. – Владимир: ВНИИЗЖ, 1997. – 72 с.
4. **Джавадов Э.Д.** Асоційоване перебіг інфекційної бурсальної хвороби і інфекційної анемії цыплят. Проблема і шляхи її рішення / Э.Д. Джавадов, М.Е. Дмитрієва, М.А. Занько і др. // Біо. – 2010. – № 9. – С. 22, 23.
5. **Лилли Р.** Патогістологічна техніка і практична гистохімія / Р. Лилли; пер.

с англ. И.Б. Краснова [и др.]; под ред. В.В. Португалова. – М.: Мир, 1969. – 645 с.

6. **Лобанов В.А.** Серологічний моніторинг інфекційної анемії цыплят і молекулярно-біологічна характеристика ізолятів вірусу / В.А. Лобанов, М.А. Волкова, В.В. Дрыгин і др. // Вестник РАСХН. – 2003. – № 2. – С. 66–69.
7. **Меркулов Г.А.** Курс патологістологічної техніки / Г.А. Меркулов. – Л., 1969. – 432 с.
8. **Мікроскопічна техніка:** Руководство / Под ред. Д.С. Саркісова, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с.
9. **Стоквис Б.** Смешанні інфекції кур-несушок / Б. Стоквис // Матер. VI Міжнарод. ветер. конгресу по птицеводству. – М., 2010. – С. 82–84.
10. **Chomczynski P.** Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction / P. Chomczynski, N. Sacchi // Anal. Biochem. – 1987. – Vol. 162. – № 1. – Р. 156–159.

Одержано 16.08.2012

Associate flow chickens infectious anemia and infectious bursal disease. A.S. Aliev, M.V. Bur-lakov, I.N. Gromov, M.K. Selikhanova

The paper considers peculiarities of manifestation of infectious anemia in the associative flow with infectious bursal disease. The role of morphological methods for the diagnosis of mono- and associative flow of chicken infectious anemia. ☉

УДК 619:619.98

В.В. ВЛІЗЛО, докт. вет. наук, професор, академік НААН України
Інститут біології тварин НААН України, Львів

Л.С. КОРОЛЕНКО, канд. вет. наук, начальник
Головне управління ветеринарної медицини в Дніпропетровській області

ВІРУС ШМАЛЛЕНБЕРГ – НОВИЙ ЗБУДНИК ЗАХВОРЮВАНЬ ЖУЙНИХ ТВАРИН

Наведено дані літератури, результати епізотологічного аналізу, матеріали, отримані під час обстеження неблагополучних господарств, зустрічей зі спеціалістами державної ветеринарної медицини та практичними лікарями ветеринарної медицини Німеччини щодо нового захворювання жуйних, викликаного вірусом Шмалленберг.

В останні десятиріччя було відкрито нових збудників хвороб тварин, зокрема віруси, які найбільш мінливі, часто змінюються залежно від навколишнього середовища й стану організму, в якому паразитують. Відкриття нових збудників у кінці ХХ – на

початку ХХІ ст. стало можливим завдяки забезпеченню лабораторій високотехнологічними приладами, які дозволяють всебічно вивчати біологічний матеріал, а також професіоналізму й глибоким знанням практичних лікарів ветеринарної медицини і науковців.

Саме такі фактори дали змогу встановити в останні роки збудників блутангу та хвороби, викликані вірусом Шмалленберг.

У листопаді 2011 р. вірус Шмалленберг було відкрито фахівцями Державного науково-дослідного інституту захисту здоров'я тварин ім. Ф. Леффлера з острова Рімс (Німеччина). Назва збудника походить від населеного пункту в цій країні, де було відібрано проби для досліджень і знайдено новий вірус.

© В.В. Влізло, Л.С. Короленко, 2012