

УДК 636.5:611.36:619:616.98

## ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ЦЫПЛЯТ И КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ ВИРУСОМ ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ

\*Громов И.Н., \*\*Алиев А.С., \*Журов Д.О., \*Селиханова М.К., \*\*\*Емельянова С.А., \*\*Бурлаков М.В.

\*УО «Витебская ордена «Знак Почёта» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

\*\*ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург

\*\*\*НПП «Авивак», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

*Экспериментальное заражение СПФ-цыплят и куриных эмбрионов вирусом инфекционной анемии приводит к развитию у них выраженных патоморфологических изменений со стороны иммунной и сердечно-сосудистой систем. При этом наиболее патогномичные изменения развиваются в тимусе и костном мозге.*

*The experimental infection of SPF-chickens and chicken embryos a virus of infectious anemia leads to development in them expressed pathomorphologic changes from immune and cardiovascular systems. This the most pathognomonic changes develop in a thymus and bone marrow.*

**Ключевые слова:** СПФ-эмбрионы, цыплята, патологоанатомические изменения, костный мозг, тимус, инфекционная анемия цыплят.

**Keywords:** SPF-embryos, chicken, pathological changes, bone marrow, thymus, chicken infectious anemia.

**Введение.** В настоящее время вспышки инфекционной анемии регистрируются во многих странах с развитым птицеводством [1; 2]. 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 птицеводческих хозяйствах промышленного типа инфекционная анемия наносит значительный экономический ущерб, который обусловлен гибелью птицы, низкими приростами и оплатой корма, снижением категорийности тушек, повышенной выбраковкой [3].

В отечественной и зарубежной литературе имеется недостаточное количество сведений, посвященных изучению патоморфологических изменений во внутренних органах куриных эмбрионов и цыплят при экспериментальном течении болезни. Патоморфологические данные охватывают незначительный срок наблюдения. Многие аспекты указанных проблем носят противоречивый характер и требуют более детального изучения.

Установлено, что вирус ИАЦ передается горизонтально и вертикально. При этом вертикальный способ передачи вируса через инкубационное яйцо принято считать основным источником распространения возбудителя. Источником вертикальной трансмиссии инфекции может служить сперма больных петухов. При наличии антител у 80% кур-несушек в стаде процент неинфицированного потомства может составить до 20. Следует отметить, что патоморфологические изменения у куриных эмбрионов, развивающиеся при заражении вирусом ИАЦ, остаются неизученными. Решение данной проблемы позволит значительно повысить достоверность, упростить и ускорить сроки постановки патологоанатомического диагноза на инфекционную анемию.

Цель работы: изучение макроскопических и гистологических изменений у цыплят и куриных эмбрионов при экспериментальном заражении их вирусом инфекционной анемии.

**Материал и методы исследований.** Исследования по изучению экспериментальной циркулярной инфекции были проведены на СПФ-эмбрионах и цыплятах суточного возраста. Эмбрионы были подобраны по принципу аналогов и разделены на 2 группы, по 10 эмбрионов в каждой. Цыплята также были подобраны по принципу аналогов и разделены на 2 группы, по 16 цыплят в каждой. Эмбрионов опытной группы в суточном возрасте заражали изолятом «Краснодарский» («АБИМ») вируса ИАЦ (депонирован в Государственной коллекции вирусов НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского под № 2722) в суточном возрасте в желточный мешок. Вирусосодержащим материалом служил стерильный 20%-ный гомогенат печени экспериментально зараженных вирусом ИАЦ СПФ-цыплят, обработанный по общепринятой методике.

Цыплята опытной группы в суточном возрасте внутримышечно заражали тем же штаммом («Краснодарский») вируса инфекционной анемии. Интактные СПФ-цыплята и эмбрионы 2 группы служили контролем. За всеми цыплятами и эмбрионами было установлено клиническое наблюдение. На 19 день после заражения эмбрионы 1 и 2 групп охлаждали при  $t=4^{\circ}\text{C}$  в течение 12 часов.

На 15 сутки СПФ-цыплят опытной и контрольной групп убивали. Проводили наружный осмотр зараженных и интактных цыплят и эмбрионов (в том числе плодных оболочек) с последующей их аутопсией. При изучении и описании анатомических полостей, трубчатых и компактных органов использовали схемы, общепринятые в патологической анатомии.

Кусочки органов (бедренная кость, тимус, фабрициева бурса, селезенка, печень, почки, сердце) фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и 96% этиловом спирте. Зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике [5]. Кусочки костной ткани предварительно декальцинировали в 10%-ном растворе уксусной кислоты [5]. Обезвоживание и парафинирование кусочков органов 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 кусочков органов, залитых в парафин, готовили на ротаторном (маятниковом)

микротоме «MICROM HM 340 E». Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин–эозином [4, 5, 6]. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

**Результаты исследований.** В костном мозге больных цыплят преобладали явления аплазии и ожирения. Они легко устанавливались при продольном разрезе трубчатых костей (бедренной или плюснево-заплюсневой). При аплазии костного мозга цвет последнего изменялся с темно-красного (норма) до серого, консистенция становилась студневидной. При ожирении кроветворной ткани на разрезе кости выявлялась светло-желтая полужидкая масса, напоминающая подсолнечное масло.

Следует отметить, что глубина поражений костного мозга у подопытных цыплят 1-3 групп была неодинаковой. Поэтому для учета степени патогенности вируса ИАЦ нами разработана 3-балльная система оценки морфологических изменений в костном мозге цыплят.

0 баллов (“-”) – нет изменений. На продольном разрезе трубчатой кости (бедренной, большеберцовой) интактных цыплят 4 группы красный костный мозг равномерно распределен в эпифизах и диафизе. Желтый костный мозг не выявлялся.

1 балл (“+”) – слабо выраженные изменения. На продольном разрезе трубчатой кости (бедренной, большеберцовой) красный костный мозг локализуется преимущественно в эпифизах. В диафизе выявляется преимущественно желтый костный мозг. Удельный объем красного костного мозга больше, чем желтого.

2 балла (“++”) – умеренные изменения. На продольном разрезе трубчатой кости (бедренной, большеберцовой) красный костный мозг локализуется преимущественно в эпифизах. Здесь же выявляются участки с ожирением. В диафизе выявляется только желтый костный мозг. Удельный объем желтого костного мозга больше, чем красного.

3 балла (“+++”) – выраженные изменения. На продольном разрезе трубчатой кости (бедренной, большеберцовой) полноценный красный костный мозг не выявляется. В эпифизах и диафизе присутствует только желтый костный мозг.

Результаты гистологического исследования показали, что при экспериментальном заражении цыплят цирковирусом в костном мозге птиц развивалась аплазия кроветворной (миелоидной) ткани, что подтверждается атрофией кроветворных островков, значительным увеличением числа жировых клеток, достоверным уменьшением количества клеток эритроцитарного и гранулоцитарного рядов, снижением лейкоэритробластического индекса, а также индексов созревания эозинофилов и псевдоэозинофилов. Компенсаторно-приспособительные и регенерационные процессы характеризовались активизацией лимфоидного кроветворения.

Следует отметить, что глубина и тяжесть гистологических изменений в костном мозге птиц подопытных групп также была неодинаковой. Поэтому для учета степени патогенности штаммов вируса ИАЦ нами предложена 3-балльная система оценки, основанная на результатах микроскопического исследования эпифизарной части костного мозга цыплят.

0 баллов (“-”) – нет изменений (интактные цыплята контрольной группы; рисунок 1). Строма органа представлена соединительнотканными трабекулами, отходящими от эндооста кости. В метафизарной области выявляются также участки хрящевой ткани. В эндотелиальной выстилке капилляров, а также среди элементов ретикулярной ткани локализуются макрофаги, содержащие гранулы железосодержащих пигментов. В петлях ретикулярной сети в непосредственной близости от макрофагов располагаются молодые и зрелые эритробластические элементы в виде островков. Созревающие гранулоциты также лежат в виде островков. Клетки тромбоцитарного ряда (тромбобласты, протромбоциты и тромбоциты) локализуются рядом с синусоидными капиллярами. Вокруг кровеносных сосудов встречаются также небольшие группы лимфоцитов и моноцитов. Среди клеток костного мозга преобладают малодифференцированные клетки. Желтый костный мозг выявлялся в диафизах трубчатой кости. В отдельных участках миелоидная ткань замещается скоплениями липоцитов (до 10% удельного объема).

1 балл (“+”) – слабо выраженные изменения. При гистологическом исследовании эпифизарной части кости на малом (об. х 10) и среднем (об. х 40) увеличении микроскопа структурные изменения не выявляются. При большом увеличении микроскопа (иммерсионный об. х 90-100) отмечаются признаки апоптоза гемопоэтических клеток, относящихся главным образом к эритроидному и гранулоцитарному росткам кроветворения. Сформированные апоптозные тельца имеют вид округлых или овальных частиц с оксифильной цитоплазмой и темно-синими фрагментами хроматина ядра. Отмечаются также деструкция и лизис апоптозных телец. Наряду с апоптозными тельцами могут выявляться внутриядерные оксифильные тельца-включения в кроветворных клетках.

2 балла (“++”) – умеренные изменения. Слабо выраженная атрофия кроветворных островков и пролиферация липоцитов. Основные структурные изменения со стороны гемопоэтических элементов регистрируются чаще в центральной части костного мозга и значительно реже – в пространствах под периостом. В осевой части органа кроветворные островки эритроидного и гранулоцитарного кроветворения чередуются с группами жировых клеток. При этом соотношение миелоидной и жировой тканей составляет 1:1. В отдельных кроветворных клетках выявляются внутриядерные оксифильные тельца-включения и явления апоптоза. Характерные полноценные кроветворные островки преобладают в субпериостальном пространстве. Их удельный объем составляет 70-80%, а желтого костного мозга – 20-30%.

3 балла (“+++”) – выраженные изменения (рисунок 2). Глубокая атрофия миелоидной ткани, главным образом ростков эритроцитарного и гранулоцитарного кроветворения. Кроветворные островки представлены лишь небольшими группами или диффузными скоплениями, которые локализуются вокруг синусоидных капилляров и артериол. Характерные полноценные кроветворные островки не выявляются. Основные структурные изменения со стороны гемопоэтических элементов регистрируются чаще в

центральной части органа и значительно реже – в пространствах под периостом.

Дольки тимуса зараженных цыплят подвергались выраженной атрофии (линейные размеры и масса уменьшались в несколько раз) и замещались жировой тканью. При этом установлено, что глубина поражений тимуса цыплят также была неодинаковой. Поэтому для учета степени патогенности вируса ИАЦ нами предложена 3-балльная система оценки морфологических изменений в тимусе:

0 баллов ("–") – нет изменений (контрольная группа). Признаки атрофии долек и их ожирения не выражены.

1 балл ("+") – слабо выраженные явления ожирения и атрофии долек. Объем долек тимуса заметно превышает объем окружающей жировой ткани.

2 балла ("++") – явления атрофии и липидоза долек носят умеренный характер. При этом удельный объем жировой клетчатки не превышает удельный объем паренхимы долек.

3 балла ("+++") – выраженные признаки склеротизации и ожирения долек. Объем жировой ткани визуально заметно больше, чем удельный объем паренхимы долек.

Результаты гистологического исследования тимуса показали, что у цыплят контрольной группы во все сроки исследования структура данного органа соответствовала физиологической норме (рисунок 3). У птиц опытной группы гистологические изменения проявлялись процессами атрофии и делимфатизации, склеротизации и липоматоза. Вместе с тем, глубина гистологических изменений в тимусе цыплят была неодинаковой. Нами были выявлены изменения слабой, умеренной и сильной тяжести.

Гистологические изменения слабой степени тяжести характеризовались лишь расширением мозгового вещества, увеличением в нем числа телец Гассалья, а в отдельных дольках – неровной границей между корковым и мозговым веществом (рисунок 4). Плотность тимоцитов отличалась относительным постоянством, по сравнению с контролем. Тимические тельца в корковом веществе не обнаруживались.

Структурные нарушения средней степени тяжести проявлялись снижением плотности расположения лимфоцитов в корковом веществе долек. Наиболее поражено было подкапсулярное пространство, где плотность лимфоцитов была наименьшей. В срединных участках корковое вещество представлено неправильной формы островками лимфоцитов (рисунок 5). В них преобладали незрелые формы лимфоцитов. Граница между мозговым веществом и островками коркового вещества нечеткая. В мозговом веществе долек отмечалось уменьшение плотности залегания лимфоцитов, а также резкое увеличение числа и размеров телец Гассалья. Скопления тимических телец выявлены и в корковом веществе. Тельца Гассалья мозгового вещества долек тимуса характеризовались высокой степенью ороговения, их размеры крупные, границы между ороговевшими эпителиоцитами нечеткие, иногда заметна концентрическая слоистость. В корковом веществе тимические тельца более мелкие, гомогенные. Со стороны подкапсулярного пространства отмечено очаговое разрастание соединительной ткани.

Глубокие (сильной тяжести) изменения тимуса характеризовались тем, что корковое и мозговое вещество зрительно не были различимы (рисунок 6). Выявлялись лишь островки лимфоцитов, которые были представлены преимущественно бластными формами клеток. Значительная часть площади (примерно 20-30%) была занята тельцами Гассалья с различным уровнем созревания и небольшими группами (3-5 клеток) лимфоцитов и фибробластов. На месте мозгового вещества выявлялись капиллярные сети. Отмечено появление единичных тучных клеток.

При макроскопическом изучении клоакальной бursы и селезенки зараженных птиц всех групп изменений не выявлено. Гистологическая картина клоакальной бursы соответствовала физиологической норме. Однако при изучении препаратов селезенки подопытных цыплят установлена выраженная делимфатизация пульпарных тяжей.

Кроме того, при патологоанатомическом вскрытии трупов цыплят отмечались: точечные, пятнистые и полосчатые кровоизлияния в перемизии мышц грудины и шеи. При наружном и внутреннем осмотре трупов выявлялись признаки малокровия. При этом кровь становилась жидкой, светло-красного цвета, плохо свертывалась. На фоне общей анемии практически во всех случаях развивались тяжелые расстройства гемодинамики в системе кожного покрова.

При патологоанатомическом вскрытии куриных эмбрионов выявлялись следующие изменения: выраженный инфантилизм тимуса; острое расширение сердца, гиперемия коронарных сосудов, кровоизлияния в перикарде; гидрперикардиум; острая венозная гиперемия зародышевых оболочек, коронарных сосудов, миокарда, мягких тканей в области шеи, у основания клюва и в области век; серозный отек соединительнотканной клетчатки.

При гистологическом исследовании центральных и периферических органов иммунной системы куриных эмбрионов нами были выявлены изменения, сходные с таковыми у цыплят, зараженных вирусом ИАЦ (рисунки 7, 8).

**Заключение.** Таким образом, экспериментальное заражение СПФ-цыплят и куриных эмбрионов вирусом инфекционной анемии приводит к развитию у них выраженных патоморфологических изменений со стороны иммунной и сердечно-сосудистой систем. При этом наиболее патогномичные изменения развиваются в тимусе и костном мозге. Вместе с тем, глубина макроскопических и гистологических изменений в костном мозге и тимусе зараженных цыплят и куриных эмбрионов была неодинаковой. В связи с этим, на основании полученных результатов исследований нами предложена 3-балльная система оценки макро- и гистологических изменений в костном мозге и тимусе, использование которых позволяет определить степень патогенности вируса ИАЦ.

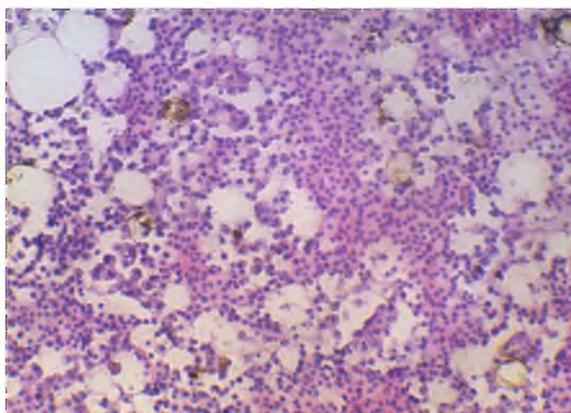


Рисунок 1 – Морфологическая структура костного мозга интактного цыпленка 15-дневного возраста. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

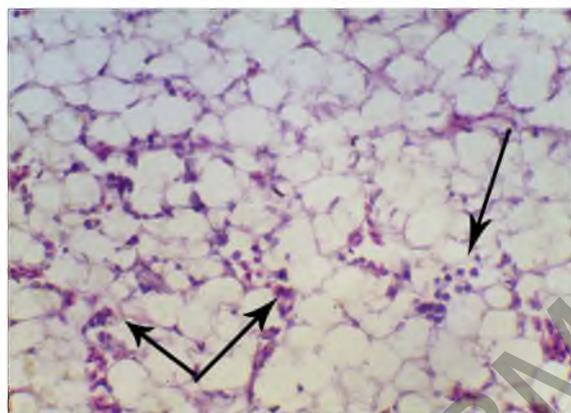


Рисунок 2 – Атрофия кроветворных островков в костном мозге цыпленка на 15 день после заражения вирусом ИАЦ. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 480

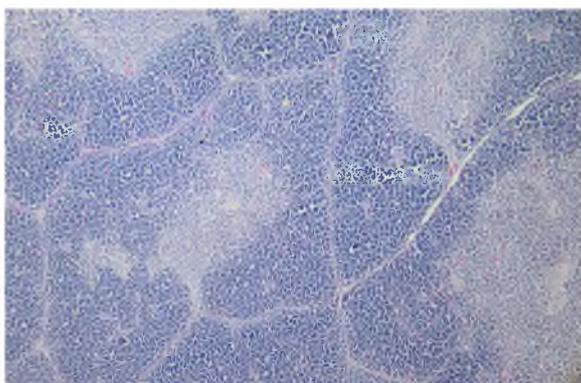


Рисунок 3 – Морфологическая структура тимуса интактного цыпленка 15-дневного возраста. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120



Рисунок 4 – Неровная граница между корковым и мозговым веществом долек тимуса цыпленка на 15 день после заражения вирусом ИАЦ. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

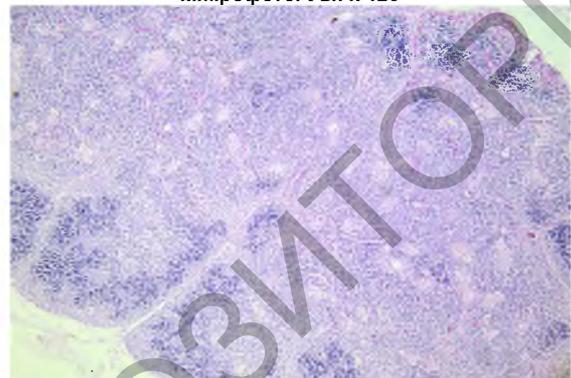


Рисунок 5 – Атрофия коркового вещества долек тимуса цыпленка на 15 день после заражения вирусом ИАЦ. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

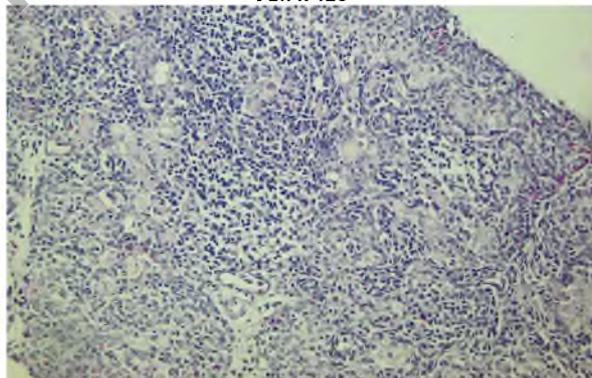


Рисунок 6 – Делимфатизация коркового и мозгового вещества долек тимуса цыпленка на 15 день после заражения вирусом ИАЦ. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

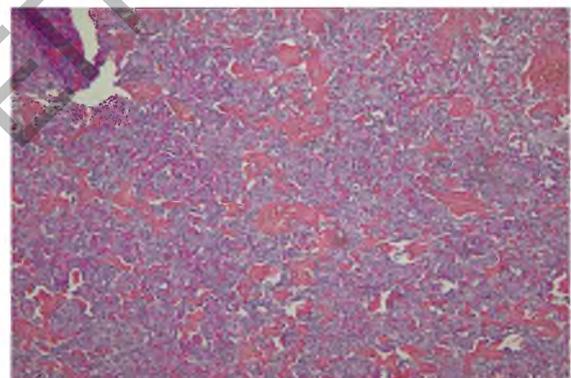


Рисунок 7 - Морфологическая структура селезенки 19-дневного куриного эмбриона контрольной группы. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

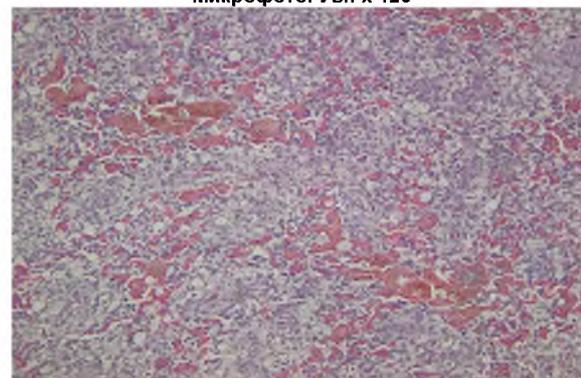


Рисунок 8 - Делимфатизация пульпарных тяжей селезенки 19-дневного куриного эмбриона опытной группы. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Микрофото. Ув.: x 120

**Литература.** 1. Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц / Б.У. Кэлнек [и др.]; под ред. Б.У. Кэлнека, Х. Джона Барнса, Чарльза У. Биерда и др.; пер. с англ. И. Григорьева, С. Дорош, Н. Хрущева, И. Суровцев. – М.: АКВАРИУМ БУК, 2003. – С. 829–849. 2. Вирусная анемия – скрытая угроза промышленному птицеводству / А.С. Алиев [и др.] // Перспективное птицеводство. – 2012. – № 1. – С. 20-25. 3. Инфекционная анемия цыплят / А.С. Алиев [и др.] // Ветеринарная медицина. – 2011. – №1. – С. 49-53. 4. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли; под ред. В.В. Португалова; пер. с англ. И.Б. Краснов [и др.]. – М.: Мир, 1969. – С. 577-592. 5. Меркулов, Г.А. Курс патологистологической техники / Г.А. Меркулов. – Ленинград: Медицина, 1969. – 432 с. 6. Микроскопическая техника: Руководство / Д.С. Саркисов [и др.]; под ред. Д.С. Саркисова, Ю.Л. Петрова. – М.: Медицина, 1996. – 544 с. 7. Серологический мониторинг инфекционной анемии цыплят и молекулярно-биологическая характеристика изолятов вируса / В.А. Лобанов [и др.] // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2003. – №2. – С. 66-69.

Статья передана в печать 26.02.2014 г.

УДК 619:616.72-002-022.6:636.5.053:611.018

## ЦИТО- И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У ЦЫПЛЯТ, ВАКЦИНИРОВАННЫХ ПРОТИВ РЕОВИРУСНОГО ТЕНОСИНОВИТА

Лазовская Н.О., Прудников В.С.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

*В статье приведены данные по влиянию вакцинации цыплят против реовирусного теносиновита отечественной сухой живой вакциной из штамма «КМИЭВ-V118» на цито- и гистохимические показатели.*

*The article presents data on the effect of vaccination of chickens against reovirus tenosynovitis of domestic dry live vaccine strain of "KMIEV-V118" on cyto- and histochemical indicators.*

**Ключевые слова:** цыплята, реовирусный теносиновит, вакцинация, аскорбиновая кислота, РНК, лимфоциты, кислая и щелочная фосфотаза, натрия тиосульфат.

**Keywords:** chickens, reovirus tenosynovitis, vaccination, ascorbic acid, RNA, lymphocytes, acid and alkaline phosphatase, sodium thiosulfate.

**Введение.** Стремительно развиваясь, птицеводство в Республике Беларусь заняло одно из ведущих мест среди отраслей сельского хозяйства. В настоящее время на рынке преобладают тенденции, связанные с ужесточением требований к качеству и безопасности выпускаемой продукции. В связи с этим для руководителей и специалистов предприятий очень важно своевременно и адекватно реагировать на меняющиеся условия производства.

В настоящее время птицеводство в Беларуси развивается в соответствии с программой развития на 2011–2015 годы. Целью данной программы является обеспечение стабильного снабжения населения республики высококачественной птицеводческой продукцией, позволяющей полностью удовлетворить потребности в яйце и мясе птицы, а также реализовать данную продукцию на экспорт.

Как известно, производство мяса птицы сосредоточено на крупных специализированных предприятиях, мощности которых позволяют осуществить единовременную посадку миллиона и более голов. Это в свою очередь создает определенные трудности в соблюдении принципа «все пусто – все занято», приводит к сокращению санитарных разрывов. К тому же зачастую стада комплектуются привезенной из-за границы птицей с недостаточной, либо недостоверной информацией о ее происхождении. На фоне нарушений в кормлении и содержании, несоблюдения ветеринарно-санитарных правил и неизбежности технологических стрессов происходит угнетение иммунной системы птицы и снижение резистентности ее организма, что приводит к активизации возбудителей инфекционных болезней различной этиологии. К таким заболеваниям относят реовирусную инфекцию птиц.

Реовирусная инфекция (теносиновит кур, вирусный артрит) – контагиозная болезнь, проявляющаяся хромотой, связанной с воспалением сухожилий и суставов конечностей, высокой ранней смертностью, плохим ростом, снижением яйценоскости и выводимости цыплят. При хроническом течении болезнь сопровождается разрывом сухожилий голени и эрозиями суставных хрящей. Чаще болеет птица мясного направления [1, 2, 3].

Вирус, вызывающий данную болезнь, является иммуносупрессором, что в свою очередь ведет к снижению способности иммунной системы цыплят адекватно отвечать на последующие вакцинации против других вирусных инфекций. Установлено также, что реовирусы оказывают иммуносупрессивное действие на организм больной птицы, и это способствует усилению патогенности других инфекционных агентов, включая эймерии, криптоспоридии, кишечную палочку и возбудителя инфекционной анемии птиц [2].

Реовирусы наиболее контагиозны для цыплят в раннем возрасте. Попадая в организм цыпленка, вирус, в первую очередь, поражает эпителиальные клетки тонкого кишечника и бursy Фабрициуса, а затем быстро распространяется в другие органы за 24-48 ч. [1, 2].

Реовирусы птиц широко распространены во всем мире. Они были выделены от цыплят при различных патологических процессах, которые проявлялись в виде артритов, перикардитов, миокардитов,