

УДК 636.5:611.36:619:616.98

**ДИНАМИКА ПАТОГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ
В ТИМУСЕ И КЛОАКАЛЬНОЙ БУРСЕ ЦЫПЛЯТ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТЕЧЕНИИ
ИНФЕКЦИОННОЙ АНЕМИИ**

**М.К. Селиханова¹, И.Н. Громов¹, А.С. Алиев², М.В. Бурлаков²,
С.А. Емельянова²**

¹ – УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

² – ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. Под влиянием вируса инфекционной анемии в тимусе и клоакальной бурсе птиц развивается выраженная дельмфатизация, морфологическими признаками которой являются: достоверное уменьшение удельного объема элементов паренхимы, размеров коркового и мозгового вещества, плотности расположения лимфоцитов в долях тимуса, увеличение объема стромальных элементов в фабрициевой бурсе. Указанные изменения регистрируются продолжительное время – до 14-21 дня после заражения, что свидетельствует о длительной персистенции вируса в организме цыплят и развитии тяжелого приобретенного иммунодефицита.

Summary. Under the influence of infectious anemia virus in the thymus and cloacal birds' bursa severe delimfatization is developed, morphological features of which are: a significant decrease in the proportion of the elements of the parenchyma, the size of the cortex and medulla, the density of location of lymphocytes in the lobules of the thymus, the increase of volume of stroma elements in bursa.

Mentioned changes are registered by the long period of time - up to 14-21 days after infection, which is evidence of the long-term persistence of the virus in chickens and development of severe acquired immunodeficiency.

Введение. Инфекционная анемия цыплят (ИАЦ) характеризуется системным поражением органов кроветворения и иммунитета. В настоящее время вспышки инфекционной анемии регистрируются во многих странах с развитым птицеводством [1, 3]. Многочисленные литературные данные, а также результаты наших собственных исследований свидетельствуют о широком распространении вируса инфекционной анемии цыплят в птицеводческих хозяйствах Российской Федерации, Украины и Республики Беларусь [3, 6, 7]. В крупных птицеводческих хозяйствах промышленного типа инфекционная анемия на-

носит значительный экономический ущерб, который обусловлен гибелью птицы, низкими приростами и оплатой корма, снижением категориальности тушек, повышенной выбраковкой, расходами на лечение вторичных инфекций и проведение соответствующих ветеринарно-санитарных мероприятий. Часто ИАЦ протекает в ассоциации с инфекционной бурсальной болезнью, рео- и метапневмовирусной инфекциями [4, 5].

В имеющийся литературе имеется недостаточно сведений, посвященных изучению патоморфологических изменений в органах и тканях цыплят при ИАЦ. Вместе с тем гистологическое исследование патологического материала позволяет в кратчайший срок поставить предварительный диагноз, что очень важно для организации и проведения предварительных противоэпизоотических мероприятий и наметить направление дальнейших лабораторных исследований [2, 8, 9, 10].

Цель работы – изучить динамику патогистологических изменений в тимусе и бурсе птиц при экспериментальном заражении вирусом инфекционной анемии.

Материал и методика исследований. Исследования были проведены на СПФ-цыплятах суточного возраста. Птица была подобрана по принципу аналогов и разделена на 2 группы, по 40 цыплят в каждой. Цыплят 1 группы в суточном возрасте внутримышечно заражали вирулентным штаммом «АБИМ» вируса инфекционной анемии. Вирусосодержащим материалом служил стерильный 20%-й гомогенат печени спонтанно больных цыплят-бройлеров, обработанный по общепринятой методике. Интактные цыплята 2 группы служили контролем. За всей птицей было установлено клиническое наблюдение. На 4, 8, 15 21 дни после заражения 4-5 цыплят из каждой группы убивали для проведения гистологического исследования тимуса и бursы. Органы фиксировали в 10% растворе формалина, зафиксированный материал подвергали уплотнению путем заливки в парафин по общепринятой методике, а также замораживанием. 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 кусочков органов, залитых в парафин, готовили на санном и роторном микротоме. Для изучения общих структурных изменений срезы окрашивали гематоксилин-эозином. Депарафинирование и окрашивание гистосрезов проводили с использованием автоматической станции «MICROM HMS 70».

В гистологических препаратах определяли размеры коркового и мозгового вещества долек тимуса и лимфоидных узелков клоакальной бурсы, плотность расположения лимфоцитов в них, удельные объемы и соотношение элементов стромы и паренхимы. Гистологические и иммуноморфологические исследования проводили с помощью светового микроскопа «БИОМЕД-6» (Россия), цифровой системы считывания и ввода видеоизображения «ДСМ-510», а также программного обеспечения по вводу и предобработке изображения «ScopePhoto».

Цифровые данные обработаны статистически с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Результаты исследований и обсуждение. У интактных птиц дольки тимуса птиц были окружены соединительнотканной капсулой, от которой внутрь органа проходили прослойки рыхлой соединительной ткани с сосудами и нервами. Паренхима долек тимуса состояла из коркового и мозгового вещества. Клеточный состав тимуса был представлен преимущественно клетками двух типов: лимфоидными и эпителиоретикулярными. Мозговое вещество содержало также соединительнотканную строму, ретикулоэпителиальную основу и лимфоциты. Установлено, что на 4 день после заражения в тимусе подопытных цыплят отмечалось достоверное уменьшение размеров коркового и мозгового вещества долек по сравнению с контролем в 1,2-3,2 раза. У отдельных птиц происходила почти полная потеря коркового вещества, которое было представлено лишь островками лимфоцитов на периферической части долек (рисунки 1; 2).

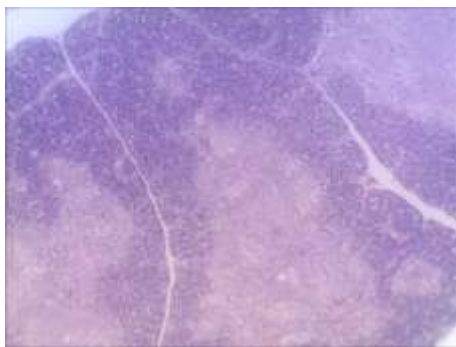


Рисунок 1 – Нормальная структура тимуса цыпленка контрольной группы в возрасте 4 дней. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

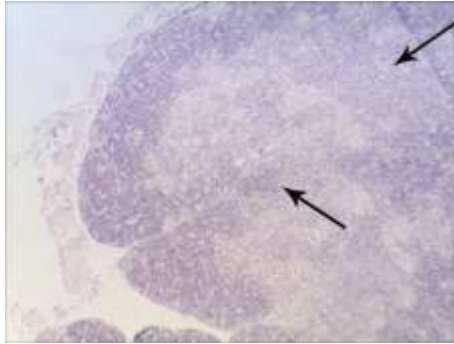


Рисунок 2 – Тимус цыпленка 1 группы на 4 день после заражения вирусом ИАЦ. Очаговая атрофия коркового вещества долек.
Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

Одновременно происходило значительное (в 1,5-4 раза; $P < 0,05$) уменьшение плотности расположения тимоцитов на условную единицу площади и в корковом и в мозговом веществе. Удельный объем стромы паренхимы в тимусе подопытных птиц уменьшился с 92% (контроль) до 76% ($P < 0,05$). На 8 день эксперимента размеры коркового и мозгового вещества долек цыплят 1 группы нормализовались по сравнению с интактной птицей. В то же время плотность тимоцитов на условную единицу площади в этот и все последующие сроки исследований была достоверно ниже, чем в контроле. Удельный объем элементов лимфоидной ткани в тимусе подопытных цыплят на 8 и 15 дни эксперимента был меньше контрольных значений, однако различия были незначительными. При исследовании размеров коркового и мозгового вещества долек тимуса птиц 1 группы на 15 день после заражения вирусом ИАЦ была выявлена тенденция к повторному уменьшению данных показателей по отношению к контрольной группе. На 21 день эксперимента в опытной группе наблюдалось восстановление корковой и мозговой зон долек тимуса. В то же время среди элементов мозгового вещества часто выявлялись очаговые лимфоидноклеточные пролифераты. Отмечено также значительное увеличение числа телец Гассала, которые выявлялись не только в мозговом, но и в корковом веществе (рисунки 3, 4). Удельные объемы стромы и паренхимы долек тимуса и их соотношение у цыплят 1 и 2 групп были примерно одинаковыми.

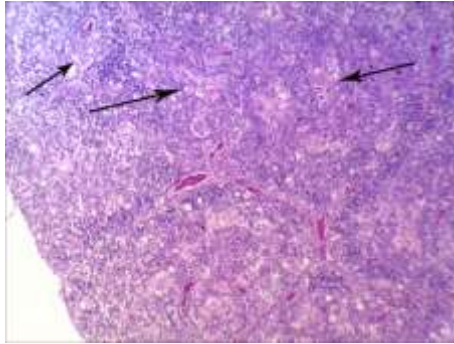


Рисунок 3 – Появление большого числа телец Гассалья в тимусе 1 группы на 21 день после заражения вирусом ИАЦ. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

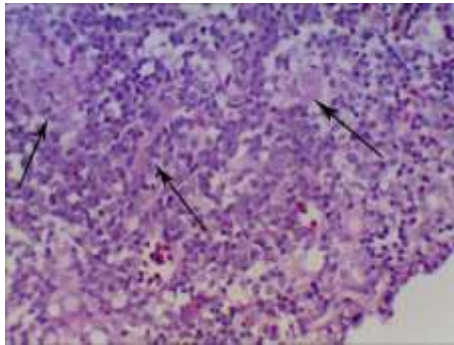


Рисунок 4 – Гистологическая структура тимуса птиц опытной группы на 21 день эксперимента. Многочисленные тельца Гассалья крупных размеров в корковом веществе долек. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 500

При исследовании бурсы Фабриция цыплят этот орган представлял собой полостной лимфоэпителиальный орган, который располагался в дорсальной части стенки клоаки в виде карманообразного выпячивания. Гистологическое исследование показало, что стенка органа состоит из слизистой, мышечной и серозной оболочек. Слизистая оболочка имела первичные и вторичные складки, покрытые многорядным призматическим эпителием. В складках слизистой оболочки визуализировались многочисленные лимфоидные узелки, состоящие из корковой и мозговой зоны. Корковая зона, расположенная на периферии лимфоидного узелка, представляла собой ретикулярную ткань, заполненную малыми и средними лимфоцитами. Ее размеры в разные сроки

у интактных птиц варьировали в пределах $19,59 \pm 2,72$ - $35,13 \pm 2,81$ мкм. Мозговая зона, занимающая центральную зону узелка, была образована эпителиальной тканью и содержала преимущественно средние и большие лимфоциты. Размеры мозговой зоны лимфоидных узелков бурсы цыплят контрольной группы в течение эксперимента составляли $69,83 \pm 11,62$ - $101,62 \pm 27,10$ мкм. Зоны узелка отделены друг от друга базальной мембраной и слоем эпителиоцитов. В собственной пластинке слизистой оболочки выявлялись микро- и макрофаги, бластные и зрелые формы лимфоцитов.

При исследовании клоакальной бурсы птиц опытной группы на 4 и 8 день после заражения отмечалось незначительное увеличение в сравнение с контролем корковой зоны клоакальной бурсы. При этом данные были не достоверными. На 15 и 21 дни отмечено уменьшение размеров корковой зоны лимфоидных узелков по сравнению с контролем. Так, размеры коркового вещества в опытной группе колебались в пределах $18,68 \pm 2,48$ мкм - $32,63 \pm 4,21$ мкм, а в контрольной от $19,59 \pm 2,72$ до $35,13 \pm 2,81$ мкм ($P > 0,05$). При исследовании мозговой зоны клоакальной бурсы опытной группы на 4, 8 и 15 дни после заражения наблюдается незначительное увеличение ее размеров до уровня $83,80 \pm 21,07$ мкм до $90,00 \pm 5,62$ мкм (в контроле - $69,83 \pm 11,62$ - $85,25 \pm 8,71$ мкм; $P > 0,05$). На 21 день эксперимента у подопытных цыплят наблюдалось недостоверное уменьшение размеров мозговой зоны бурсы с $101,62 \pm 27,10$ мкм (контроль) до $60,04 \pm 5,67$ мкм.

При этом соотношение корковой и мозговой зон колебались в пределах $0,20 \pm 0,03$ - $0,42 \pm 0,15$ (контрольная группа и $0,25 \pm 0,08$ - $0,51 \pm 0,16$ (опытная группа; $P > 0,05$).

Плотность лимфоцитов на условную единицу площади у подопытных цыплят на 4 и 8 день эксперимента незначительно уменьшалась до $0,04 \pm 0,01$ (в контроле - $0,06 \pm 0,01$; $P > 0,05$). На 15 день после заражения плотность лимфоцитов не изменялась. На 21 день после заражения у цыплят 1 группы было незначительное увеличение плотности лимфоцитов, а в мозговой зоне вновь наблюдалось их незначительное уменьшение.

Существенные изменения наблюдались при исследовании удельных объемов стромы и паренхимы и их соотношения. Так, на 4, 8 и 15 день после заражения удельные объемы элементов паренхимы в клоакальной бурсе подопытных цыплят снижались до уровня $67,15 \pm 1,85\%$ - $81,92 \pm 4,31\%$ (в контроле - $88,80 \pm 3,65\%$ - $93,50 \pm 1,40\%$; $P < 0,001$). На 21 день опыта удельный объем элементов паренхимы нормализовался по сравнению с контрольной группой. При исследовании удельного объема стромы на 4, 8 и 15 после заражения мы наблюдали тенденцию к его

значительному увеличению с $6,50 \pm 1,40\%$ - $11,20 \pm 3,65\%$ в контроле до $16,54 \pm 5,95\%$ - $18,67 \pm 6,74\%$ ($P < 0,001$). Повсеместно в слизистой оболочке отмечались признаки организации (рисунки 5; 6).

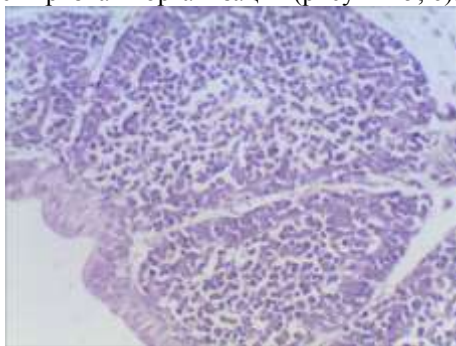


Рисунок 5 – Нормальная структура клоакальной бursы цыпленка 2 группы 21-дневного возраста. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 500

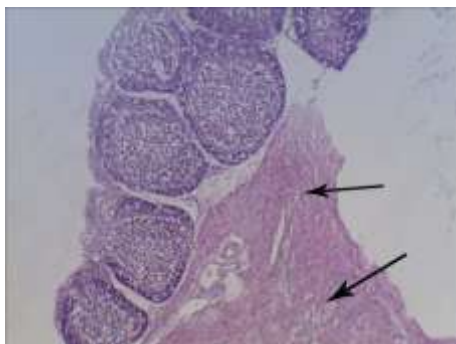


Рисунок 6 – Крупноочаговая организация слизистой оболочки клоакальной бursы цыпленка 1 группы на 21 день после заражения вирусом ИАЦ. Микрофото. Гематоксилин-эозин. Биомед-6. Ув. x 120

На 21 день опыта наблюдалось уменьшение удельного объема стромы с $29,79 \pm 1,08\%$ (контрольная группа) до $27,67 \pm 2,34\%$ (опытная группа). При этом в указанные сроки исследований соотношение стромы и паренхимы в клоакальной бурсе подопытных цыплят изменялось с $0,22 \pm 0,06$ до $0,49 \pm 0,04$ ($P < 0,001$). На 21 день эксперимента соотношение стромы и паренхимы в опытной группе находилось на уровне $0,47 \pm 0,05\%$, а в контрольной группе – $0,42 \pm 0,03$ ($P > 0,05$).

Заключение. Таким образом, под влиянием вируса инфекционной анемии в тимусе птиц развивается выраженная делимфатизация,

морфологическими признаками которой являются: уменьшение размеров коркового и мозгового вещества долек тимуса, плотности расположения лимфоцитов, удельного объема элементов паренхимы. Указанные изменения регистрируются продолжительное время – до 21 дня после заражения, что свидетельствует, с одной стороны, о длительной персистенции вируса в организме цыплят, а с другой – о развитии тяжелого приобретенного иммунодефицита. Морфологическая перестройка бурсы Фабриция птиц характеризуется развитием выраженной делимфатизации, морфологическими признаками которой являются достоверное уменьшение удельного объема элементов паренхимы и увеличение объема стромальных элементов на 4-15 дни эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакулин, В.А. Болезни птиц / В.А. Бакулин. – СПб : Искусство России, 2006. – 688 с.
2. Бирман, Б.Я. Диагностика, лечение и профилактика иммунодефицитов птиц / Б.Я. Бирман, И.Н. Громов. – Минск : Бизнесофсет, 2004. – 92 с.
3. Вирусная анемия – скрытая угроза промышленному птицеводству / А.С. Алиев [и др.] // Аграрная наука: современные проблемы и перспективы развития : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию ДГАУ им. М.М. Джамбулатова, Махачкала, 27-28 июня 2012 г. / ДГАУ ; редкол.: З.М. Джамбулатов [и др.]. – Махачкала, 2012. – С. 58-72.
4. Клинико-морфологические особенности инфекционной анемии цыплят / А.С. Алиев [и др.] // Ветеринария. - 2012. - № 1. – С. 25-29.
5. Клинико-морфологические особенности инфекционной анемии цыплят / А.С. Алиев [и др.] // Ветеринария. - 2012. - № 1. – С. 25-29.
6. Роль патоморфологических исследований в диагностике инфекционной анемии цыплят при моно - и ассоциативном течении / И.Н. Громов [и др.] // Животноводство и ветеринарная медицина. - 2012. - № 2 (5). – С. 46-54.
7. Структурные изменения в тимусе и фабрициевой бурсе цыплят при экспериментальной инфекционной анемии / И.Н. Громов [и др.] // Инновационные разработки и их освоение в промышленном птицеводстве: материалы XVII междунар. конф., Сергиев Посад, 15-17 мая 2012 г. / ВНИТИП; редкол.: В.И. Фисинин [и др.]. – Сергиев Посад, 2012. – С. 521-523.
8. Турицына, Е.Г. Критерии морфологической оценки иммунодефицитов птиц / Е.Г. Турицына // Ветеринария. – 2009. - № 5. – С. 73-77.
9. Фабрициева Bursa как индикаторный орган при гистологическом изучении состояния иммунитета у кур / Г.А. Красников [и др.] // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: материалы Междунар. науч.-произв. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. Авророва А.А., Воронеж, 22-23 июня 2006. / ВГАУ им. К.Д. Глинки; редкол.: В.С. Шабунин [и др.]. - Воронеж: Научная книга, 2006.- с. 141-147.
10. Histopathology of chicks inoculated with chicken anemia agent (MSB1-ТК5803 strain) / M. Gorio [et al.] // Avian Pathol. – 1989. – Vol. 18. – P. 73-89.