

На правах рукописи

КОРОВИН Владимир Иванович

**ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА АДЕНОВИРУСНОГО
ГИДРОПЕРИКАРДИТА КУР И ЕГО АССОЦИИРОВАННОГО
ТЕЧЕНИЯ С ДРУГИМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ
БОЛЕЗНЯМИ ПТИЦ**

16.00.03 - ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология
16.00.02 - патология, онкология и морфология животных

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург
2005

Работа выполнена в отделе вирусологии и опухолевых болезней птиц Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства, испытательной лаборатории ФГОУ ВПО Белгородской ГСХА, на птицефабриках РФ различного технологического направления.

Научные руководители:

- доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАСХН
Коровин Рудольф Николаевич
- доктор ветеринарных наук
Бакулин Валерий Александрович

Официальные оппоненты:

- доктор ветеринарных наук, профессор
Кудряшов Анатолий Алексеевич
- доктор ветеринарных наук
Трефилов Борис Борисович

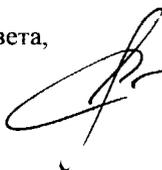
Ведущая организация - ФГОУ ВПО «Белгородская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита диссертации состоится “02” июня 2005 г в “13” часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул.Черниговская, 5

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины».

Автореферат разослан “30” апреля 2005 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Узюмова О.В.

2006-4
5460

2140248

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

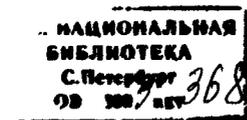
Актуальность проблемы. В современных условиях ведения промышленного птицеводства наибольшую опасность представляют инфекционные заболевания птиц, в том числе аденовирусная инфекция кур Аденовирусный гепатит с включениями-гидроперикардит (ГТВ) – высококонтагиозное вирусное заболевание птиц, основными признаками которого являются гепатит, нефрозо-нефрит, скопление серозной жидкости в перикарде, нарушение свертываемости крови.

Заболевание получило широкое распространение и наносит значительный ущерб птицеводству не только при остром течении в виде "гепатита-гидроперикардита" со смертностью птиц от 20 до 70%, но и при субклиническом проявлении болезни, так же сопровождающемся поражением печени, поджелудочной железы, селезенки и других внутренних органах (Ибрагимов А.А., Горюнова Т.А., 1987; Бакулин В.А., 1991; Лагуткин Н.А. с сотр., 1992; Алиев А.С с сотр., 1996; Бакулин В.А. с сотр., 1998; Борисов В.В. с сотр., 2003; Крон Н.В., 2003; Khawaja D. A. et al, 1988; Saifuddin M. D. and Wilks C. R., 1990; Cowen B. S., 1992; Ahmad Mansur-Ud-Din, Graham W. Burgess, 2001; Shivaprasad H L. et al., 2001, Raue R., et al., 2002). При комплексной диагностике аденовирусного гепатита с включениями-гидроперикардита большое значение имеют патоморфологические исследования, которые позволяют понять сущность патологического процесса, протекаемого в организме зараженных цыплят, выявить сопутствующую ему иммунологическую перестройку и объяснить многие функциональные изменения во внутренних органах птиц и обусловленные ими клинические признаки заболевания.

В настоящее время остаются недостаточно изученными вопросы патогенеза и диагностики ассоциированного течения аденовирусного гепатита с включениями-гидроперикардита с другими инфекционными и различными болезнями птиц. Отсутствуют сведения об эффективности химиопрепаратов при гепатите-гидроперикардите.

Цель и задачи исследований. Целью настоящих исследований явилось изучение эпизоотологии и патогенеза аденовирусного гепатита с тельцами включениями – гидроперикардита, характера его ассоциированного течения с некоторыми инфекционными болезнями птиц, выбор наиболее достоверных методов диагностики аденовирусного гепатита с тельцами включениями – гидроперикардита и изучение профилактического действия против возбудителя данного заболевания некоторых противовирусных препаратов.

В соответствии с поставленной целью в задачи наших исследований входило:



1. Провести эпизоотический мониторинг по аденовирусному гепатиту с включениями - гидроперикардиту кур в различных птицеводческих хозяйствах России.

2. Изучить патогенез аденовирусного гепатита с включениями - гидроперикардита у кур различных кроссов

3. Исследовать характер ассоциированного течения аденовирусного гепатита с включениями - гидроперикардита с инфекционным бронхитом (ИБК) у птиц различного возраста.

4. Испытать антивирусное действие некоторых химических препаратов с целью неспецифической профилактики аденовирусного гепатита с включениями - гидроперикардита.

Научная новизна. Проведено эпизоотологическое обследование птицефабрик различных природно-климатических зон страны на птице различных кроссов и направлений продуктивности. Разработана комплексная система диагностики ГТВ, ИБК, ассоциированного течения аденовирусного гепатита с включениями - гидроперикардита с инфекционным бронхитом кур.

Впервые получены сведения о патогенезе и влиянии аденовирусного гепатита с тельцами включениями-гидроперикардита на характер течения инфекционного бронхита кур. Впервые испытан противовирусный препарат в качестве средства неспецифической профилактики аденовирусной инфекции и предложен для применения в промышленном птицеводстве

Практическая значимость. Изучено ассоциированное течение аденовирусной инфекции (ГТВ) и короновирусной инфекции (ИБК), что имеет большое значение в ретроспективной диагностике этих инфекций. Разработанная комплексная система диагностики позволяет в кратчайшие сроки ставить диагноз на ГТВ, ИБК и на их ассоциированное течение, своевременно применять средства специфической и неспецифической профилактики этих заболеваний. Для химиофилактики аденовирусной инфекции впервые с положительным эффектом в лабораторных и производственных условиях апробирован противовирусный препарат «Бонафтон» и предложен для применения в промышленном птицеводстве

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Эпизоотический мониторинг по аденовирусному ГТВ в различных птицеводческих хозяйствах России.

2. Изучение патогенеза аденовирусного ГТВ у различных кроссов кур и характера его ассоциированного течения с ИБК у птиц различного возраста.

3. Испытание антивирусного действия некоторых химических препаратов с целью неспецифической профилактики аденовирусного ГТВ.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на методических и научных советах Всероссийского НИВИ птицеводства, г. Санкт-Петербург (1999-2002); на XIV международной межвузовской на-

учно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии» СПбГАВМ, г. Санкт-Петербург (2001); на VII международной научно-производственной конференции БелГСХА, г. Белгород (2003); на II международной межвузовской научно-практической конференции аспирантов и соискателей «Предпосылки и эксперименты в науке» СПбГАВМ, г. Санкт-Петербург (2004).

Публикации. Основные положения диссертации опубликованы в 4 печатных работах.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, обсуждение, выводы, практические предложения, список литературы и приложение

Работа иллюстрирована 24 таблицами, 11 рисунками. Список литературы включает 165 источников, в том числе 115 иностранных.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работа выполнена в 1999-2002 гг. в отделе вирусологии и опухолевых болезней птиц Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства, в испытательной лаборатории Белгородской государственной сельскохозяйственной академии и птицефабриках различного технологического направления РФ.

В лабораторных опытах было использовано 200 цыплят 10-суточного возраста, 60 цыплят 14-суточного возраста, 60 цыплят 35-суточного возраста, 160 цыплят 60-суточного возраста, 75 цыплят 80-суточного возраста, 80 цыплят 120-суточного возраста, полученных из птицефабрик благополучных по инфекционным болезням

Изучение патоморфологии спонтанного проявления аденовирусного гепатита с тельцами-включениями проводили на материале из 7 птицеводств различных природно-климатических зон страны, в т.ч.: птицефабрика "Петрозаводская" (республика Карелия, г. Петрозаводск), птицефабрика "Владимирская" Красноярского края, птицефабрика "Томаровский бройлер" Белгородской области, АОЗТ "Птицефабрика Пермская" Пермской области, птицефабрика "Забайкальская" Читинской области, птицефабрика "Алком" (республика Хакасия) и птицефабрика "Таганрогская" (г. Таганрог).

Эпизоотологическое обследование проводили по общепринятой во ВНИВИП методике, которая предусматривает: анализ системы ветеринарно-санитарных мероприятий, патологоанатомическое вскрытие трупов павших и вынужденно убитых птиц с отбором материала для гистологических, серологических, электронномикроскопических и вирусологических исследований и постановкой биопробы с использованием выделенного вирусологического агента для подтверждения диагноза.

Серологические исследования сыворотки крови цыплят на наличие антител к аденовирусу проводили в реакции диффузионной преципитации в агаровом геле по общепринятой методике с использованием штамма «Т-12» аденовируса цыплят.

Гистологически исследовали пробы печени, фабрициевой сумки, тимуса, селезенки, поджелудочной железы, костного мозга, почек от цыплят различного возраста, имевших признаки гепатита с включениями-гидроперикардита. Для обнаружения антигена аденовируса гепатита с включениями-гидроперикардита в печени использовали РДП

Вирусосодержащий материал, полученный из птицеводств, выборочно контролировали электронномикроскопически. Препараты из надосадочной жидкости подготавливали методом негативного контрастирования с использованием фосфорно-вольфрамовой кислоты по общепринятой методике (по Nermut) (Бакулин В.А. с сотр., 1998).

Опыт по экспериментальному воспроизведению "гепатита-гидроперикардита" проводили на 30 цыплятах популяции "Аврора" ВНИГРЖ, 15 цыплятах «Бройлер-6» 14-суточного возраста и 15 цыплятах кросса «Иза-браун», которых заражали внутримышечно аденовирусом птиц штамм "Т-12".

Серию опытов по изучению влияния аденовирусного гепатита с тельцами включениями – гидроперикардита на развитие ИБК проводили на цыплятах 10-, 60- и 120-суточного возраста. В работе использовали патогенный штамм ИБК "Чапаевский". Инфекционный титр вируса $10^{7.5}$ - $10^{8.5}$ ЭИД₅₀. Из каждой возрастной серии цыплят было сформировано по 4 группы (по 20 цыплят одного возраста в каждой группе): 1 группу заражали внутримышечно штаммом «Т-12» аденовируса птиц; 2 группу внутримышечно штаммом «Чапаевский» вируса ИБК; 3 – внутримышечно штаммом «Т-12» аденовируса птиц, а затем через 12 часов внутримышечно штаммом «Чапаевский» вируса ИБК; 4 группа птиц служила незараженным контролем.

Убой цыплят и отбор проб внутренних органов проводили на 3-, 6- и 10-сутки после заражения аденовирусом. Для патоморфологических и гистологических исследований брали пробы печени, тимуса, фабрициевой сумки, селезенки, поджелудочной железы, 12-перстной кишки, трахеи, бронхов, легких, воздухоносных мешков, почек с надпочечниками, а от цыплят 60- и 120-суточного возраста, кроме того, яичник и яйцевод.

Серологические исследования сыворотки крови цыплят на наличие антител к аденовирусу и к вирусу инфекционного бронхита кур проводили в реакции диффузионной преципитации в агаровом геле по общепринятой методике с использованием штамма «Т-12» аденовируса птиц и «Чапаевский» вируса ИБК, и методом ИФА.

Взятый материал фиксировали в 10%-водном растворе нейтрального формалина или в 96° этиловом спирте. По окончании фиксации пробы

разделяли на ряд поперечных сегментов, каждый из которых заливали в парафин, руководствуясь методиками, изложенными в руководствах по гистологической технике Г.А Меркулова (1969), Г И. Роскина и Л.Б. Левинсона (1957), сократив время экспозиции материала в средах. Остальные органы заливали целиком. Серийные срезы толщиной 5-7 мкр. готовили на санном микротоме, а затем окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы исследовали с помощью стереоскопического микроскопа СЕТИ с увеличением $\times 100$ и комплексной компьютерной программы анализа изображений «Видео Тест 5,0».

Влияние аденовирусного гепатита с тельцами включениями-гидроперикардита на восприимчивость цыплят к инфицированию *E. coli* проводили на 10-суточных цыплятах, заражая их аденовирусом - возбудителем гепатита с включениями – гидроперикардита штамм «Т-12» (ЛД₅₀ на голову - 1,92 lg/0,2 мл), а затем *E. coli*, серотипом O₂. Перечень исследуемых органов и методики те же, что и в первом опыте.

Опыты по испытанию эффективности противовирусного препарата «Бонафтона» проводили в опытах на цыплятах-бройлерах 10-, 35-, 50- и 80- суточного возраста.

Из птиц каждого возраста было сформировано по 5 групп - 20 голов в каждой, подобранных по принципу аналогов. Цыплятам первых трех групп за 12 часов до заражения патогенным штаммом аденовируса "Т-12" давали с кормом бонафтон в дозе 25, 50 и 75 мг/кг живой массы, и в последующие 5 суток продолжали давать препарат в указанной дозе – 1 раз в 24 часа. Цыплят четвертой группы заражали аденовирусом, но препарат не давали. Цыплята пятой группы были интактной контрольной группой. Период наблюдения составил 14 суток.

Влияние препарата на показатели неспецифической резистентности оценивали по следующим параметрам:

- *гематологические*: подсчитывали количество эритроцитов, лейкоцитов (меланжерным способом с использованием камеры Горяева), гемоглобина (гемоглобин-цианидным методом), в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза, определяли лейкограмму на основании подсчета 200 клеток по Болотникову И.А. (1980);
- *биохимические*: общий белок (рефрактометрическим методом);
- *иммунологические*: количество лизосомально-катионных белков (ЛКБ) (по Колабской Л.С. и соавт., 1975), бактерицидную активность сыворотки крови определяли методом, модифицированным П.Н. Смирновым и соавт., (1989). Для математического анализа полученных данных был использован разностный метод Стьюдента-Фишера (Чистяков А.И., 1966).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Эпизоотологического обследования птицеводческих хозяйств. Всего обследовано 7 птицеводческих хозяйств. Нами было отмечено, что гепатит с включениями-гидроперикардит регистрировался в различных природно-климатических зонах страны, как на мясных, так и на мясо-яичных и яичных кроссах кур. В естественных условиях регистрировались различные формы течения заболевания от субклинической до острой. Независимо от возраста цыплят, максимальный отход наблюдали на 5-6 день после начала болезни, постепенно он снижался к 10-12 дню.

При остром течении болезни обнаруживали гидроперикардит – скопление в сердечной сорочке серозной или кровянистой, позднее студнеобразной, а в единичных случаях, фибринозной массы (5 мл и более), незначительное увеличение и глинистое окрашивание печени, с наличием в ней пятнистых геморагий и очагов некроза. Почки были увеличены, беловато-серого цвета (мозаичные), с отложением уратов в просвете канальцев и мочеточников. Селезенка иногда была увеличена, с кровоизлияниями, придавшими ей мраморный вид, тимус уменьшен в размере, поджелудочная железа иногда была гиперемирована, имела точечные кровоизлияния, bursa Фабрициуса в некоторых случаях была атрофирована, легкие уплотнены и отечны. Также наблюдали нарушение свертываемости крови.

При хроническом течении отмечали гепатит в виде незначительного увеличения печени, которая была желто-коричневого цвета или мозаичная, в некоторых случаях с кровоизлияниями и небольшими светлыми очагами по краям долек; панкреатит, нефрозо-нефрит, гипоплазию фабрициевой сумки, сплениит и очень редко гидроперикардит

При гистологическом исследовании в печени наблюдали гепатит с базофильными и эозинофильными тельцами-включениями в ядрах гепатоцитов, в поджелудочной железе – очаговые лимфоидно-гистиоцитарные пролифераты и наличие в отдельных её клетках внутриядерных телец-включений и атрофию железистой ткани

Падеж с паткартиной гидроперикардита выявляли в 30 - 70% случаев, в зависимости от возраста цыплят и остроты течения инфекции. Так у птиц 30-40-суток гидроперикардит был в 70% случаев, а у птиц старше 100-суточного возраста в 30% и реже. При исследовании сыворотки крови птиц различного возраста в РДП, были установлены антитела к возбудителю аденовирусного гепатита с включениями - гидроперикардита.

В результате проведенных исследований нами отмечено, что тяжесть клинических признаков болезни зависит от генетических особенностей птицы, уровня естественной резистентности организма, а также от биоценоза вирусов и бактерий. Болезнь чаще проявляется у птиц в состоянии иммуносупрессии (например, при болезни Гамборо, при токсикоинфекциях и кормовых токсикозах), при которой аденовирус активно репродуцируется в организме.

Таблица 1.

Результаты эпизоотологического обследования птицефабрик

| № п п | Птице-фабрика | Возраст птиц, дн | Кол-во проб/из них по-ложит* | РДП с гомогенатом печени | Гистология всего проб/из них положи-тельные | Биопроба всего проб/из них положи-тельные |
|-------|--|------------------|------------------------------|--------------------------|---|---|
| 1 | «Петрозаводская» г Петрозаводск | 1 | 15/0 | - | 20/0 | ни |
| | | 27 | 15/0 | 1 8 | 20/17 | ± |
| | | 37 | ни ** | 1 4 | 20/18 | + |
| | | 40 | 15/4 | 1 8 | 20/17 | + |
| | | взрослые | 15/14 | - | 20/0 | + |
| 2 | «Владимирская» Красноярский край | 15-18 | ни | + | 15/12 | + |
| | | 64 | 5/0 | + | ни | ± |
| | | 85 | 10/1 | + | ни | + |
| | | 99 | 5/2 | ± | ни | + |
| | | 135 | 10/4 | + | ни | + |
| 3 | «Пермская» г Пермь | 11 | ± | - | 10/0 | ни |
| | | 25 | ни | + | 9/1 | ни |
| | | 32 | + | + | 10/4 | ± |
| | | 37 | + | + | 9/6 | ни |
| | | 45 | + | + | 9/7 | ни |
| | | 49 | + | + | 8/5 | + |
| | | 58 | + | + | 7/0 | ни |
| | | 65 | + | + | 8/0 | ни |
| | | 81 | + | ± | 10/0 | ни |
| | | 82 | + | + | 9/2 | + |
| 108 | + | + | 8/1 | ни | | |
| 4 | «Алком» респ Хакасия | 20-26 | + | + | 2/2 | + |
| | | 34 | + | + | 3/3 | ни |
| | | 40 | ± | + | 3/3 | + |
| | | 45-50 | + | ± | 2/2 | ни |
| | | 65-70 рем м | + | + | 3/3 | ни |
| | | + | + | 5/5 | + | |
| 5 | «Забайкальская» Читинская обл | 3 | - | ± | 4/0 | ни |
| | | 5 | - | + | 4/3 | + |
| | | 10 | + | + | 9/5 | ± |
| | | 26 | + | + | 7/2 | + |
| 6 | «Таганрогская» г Таганрог | 30 | 5/0 | ± | ни | ни |
| | | 37 | 5/0 | + | ни | ± |
| | | 63 | 5/4 | + | ни | + |
| | | 78-83 | 5/5 | + | ни | ни |
| 7 | «Томаровский бройлер» Белгородская обл | 25 | 25/21 | 1 1 | 15/4 | ни |
| | | 30 | 25/3 | 1 4 | 19/15 | 10/4 |
| | | 51 | 23/0 | ни | ни | ни |
| | | 75 | 19/4 | ни | ни | ни |
| | | 180 | 25/17 | ни | ни | ни |
| 242 | 21/17 | ни | ни | ни | | |

* - реакция РДП на наличие антител в сыворотке крови; ** - исследования не проводились.

3.2. Восприимчивость птиц различных кроссов к аденовирусной инфекции и патоморфология экспериментальной формы аденовирусного гепатита с тельцами включениями – гидроперикардита.

Опыт по экспериментальному воспроизведению "гепатита-гидроперикардита" проводили на 30 цыплятах популяции "Аврора" ВНИГРЖ, 15 цыплятах «Бройлер-6» и 15 цыплятах кросса «Иза-браун» 14-суточного возраста, которых заражали внутримышечно аденовирусом птиц штамм "Т-12". В ходе опыта наблюдали за общим состоянием птиц, проводили убой цыплят и отбор внутренних органов (печень, селезенка, почки, центральные и периферические лимфоидные органы) для последующих гистологических исследований. При оценке восприимчивости птиц к заражению сравнивали число заболевших цыплят в различных группах, уровень смертности, наличие и интенсивность проявления характерных для заболевания патологоанатомических и гистологических изменений во внутренних органах.

Птиц популяции "Аврора" условно подразделили на 2 группы "белые" (в т.ч. сероватые) и черные. Клинические признаки заболевания единично начали проявляться на 2-е сутки после заражения и были сильно выражены на 3-и сутки. Птицы были угнетены, имели взъерошенное оперение. Наблюдался плохой аппетит, вплоть до полного отказа от корма, на 5-8-е сутки, у некоторых птиц наблюдали затрудненное дыхание. Результаты исследования представлены в табл.2.

Таблица 2.

Динамика гибели птиц в различных группах.

| № пп | Группы птиц | Всего птиц | Количество павших цыплят | | | | | Сохранность, % |
|------|---------------|------------|-----------------------------|---|---|---|---|----------------|
| | | | Сроки после заражения (дн.) | | | | | |
| | | | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | |
| 1. | Аврора-белые | 15 | 1 | 1 | 1 | - | 1 | 73,3 |
| 2. | Аврора-черные | 15 | - | - | 1 | - | 1 | 86,7 |
| 3. | Бройлер-6 | 15 | 1 | 2 | 1 | 1 | - | 66,7 |
| 4. | Иза-браун | 15 | 1 | 2 | 1 | 2 | - | 60,0 |

При патологоанатомическом вскрытии трупов павших цыплят через 36-48 часов после заражения отмечали гепатит-гидроперикардит, нефрозонофрит, отек легких и нарушение свертываемости крови. Гидроперикардит наблюдался в 1-ом из 4-х случаев в первой группе, в 1-ом из 2-х во второй, в 2-х из 5-ти случаев в третьей и в 2-х из 6-ти в четвертой группе.

При гистологическом исследовании проб печени от птиц различных групп устанавливали гепатит с наличием внутриядерных "телец-включений", характерных для аденовирусной инфекции. Интенсивность

поражения органа у птиц различных групп отличалось мало. Проведенное исследование показало более высокую устойчивость к заражению аденовирусом, возбудителем "гепатита-гидроперикардита" цыплят породы "Аврора" – сохранность 86,7%.

3.3. Патоморфология спонтанной формы аденовирусного гепатита с тельцами включениями – гидроперикардита.

Изучение спонтанной формы ГТВ, проведенное в период с 1998-2002 годов, показало, что заболевание отмечается в птицеводствах, специализирующихся на разведении птицы различных пород и размещенных в самых разнообразных природноклиматических зонах. Динамика и характер патоморфологических изменений, их варианты, отмечавшиеся при спонтанной форме болезни, были подобны тем, которые выявлялись при экспериментально воспроизведенном заболевании.

При обследовании птицеводств нами было отмечено, что в настоящее время встречается как острое, так и субклиническое течение заболевания.

При остром течении болезни обнаруживали гидроперикардит, печень была кровенаполнена неравномерно окрашена, с некрозами различной степени интенсивности. Желчный пузырь был переполнен желчью, почки – увеличены, в мочеточниках обнаруживали скопление мочевинок солей. У павших цыплят селезенка была увеличена, отмечалась желтое окрашивание подкожной клетчатки и изредка кровоизлияния в скелетной мускулатуре. При гистологических исследованиях в паренхиме печени наблюдали выраженный периваскулярный отек и геморрагическую инфильтрацию, в просветах кровеносных сосудов повышенное скопление эритроцитов, клетки эндотелия в состоянии пролиферации. Большинство гепатоцитов были увеличены в размерах, цитоплазма их разжижена, в состоянии зернистого белкового и жирового перерождения. Отдельные клетки уменьшены, с резко ацидофильной цитоплазмой и пикнотичным ядром. В некоторых участках встречались небольшие очаги некроза. В почках отмечали застойные явления, набухание клеток эндотелия капилляров, дистрофические изменения эпителия в почечных канальцах и мочеточниках.

При хроническом течении наблюдали гепатит, панкреатит, нефрозо-нефрит, гипоплазию фабрициевой сумки, сплениит и очень редко гидроперикардит.

В некоторых случаях заболевание патологоанатомически не проявлялось вовсе и для его регистрации были необходимы гистологические исследования. Несмотря на субклиническое начало заболевания, которое отмечалось у птиц 25-40-суточного возраста, как результат переболевания ГТВ, при гистологических исследованиях отмечали изменения в печени, характерные для гепатита с базофильными и эозинофильными внутриядерными включениями в гепатоцитах, иногда в поджелудочной железе –

панкреатит, с наличием внутриядерных включений в железистых клетках, в селезенке – спленит, с наличием внутриядерных включений в ретикулярных клетках.

Для подтверждения диагноза и контроля вирусосодержащего материала, полученного из различных птицеводств России, был выборочно проведен ряд электронномикроскопических исследований. При отборе проб для гистологических исследований, в некоторых случаях, от одной птицы брали две пробы печени: первую пробу фиксировали для гистологического анализа, вторую замораживали в нативном виде. В тех случаях, когда находили характерные изменения в гистосрезках, парную пробу печени размораживали и обрабатывали для электронномикроскопических исследований методом негативного контрастирования по Nermut, таким образом, подтверждали специфичность вирусной этиологии болезни - обнаружением в пробе аденовируса. При электронно-микроскопических исследованиях находили вирусные частицы, которые по морфологии соответствовали аденовирусам.

3.4. Влияние аденовирусного гепатита с тельцами включениями – гидроперикардита на развитие инфекционного бронхита кур.

Различные факторы, в том числе вирусные заболевания, способствуют развитию аденовирусной инфекции, это послужило основанием для проведения опытов по изучению ассоциированного течения аденовирусного гепатита с тельцами включениями - гидроперикардита и ИБК. Исследования проводили на цыплятах 10-, 60- и 120-суточного возраста.

Заражение цыплят 10-суточного возраста штаммом «Т-12» аденовируса птиц сопровождалось их угнетением, взъерошенностью оперения, снижением аппетита. У цыплят 120-суточного возраста болезнь протекала в хронической форме. При заражении 10-суточных птиц смертность была 75% - 15 голов из 20, 60-суточных – 70% - 14 из 20, 120-суточных – 60% - 12 из 20. Падеж в группе 10-суточных цыплят наблюдался в первые 2-4 суток, группах 60 и 120-суточного на 3-5 сутки после заражения.

Во второй опытной группе, у птиц 10-, 60- и 120-суточного возраста, зараженных штаммом «Чапаевский» вируса ИБК, первые клинические признаки в виде чихания, учащенного дыхания с инспираторной одышкой, влажными трахеобронхиальными хрипами появились у 30% 10-суточных цыплят через 22-24 часа после заражения, аппетит у большинства цыплят был сохранен. На 6 сутки опыта клинические симптомы наблюдались у 70% цыплят и были более выражены, отмечали понижение аппетита, усиление жажды, вялость, сонливость, в момент чихания птицы издавали короткие хрипловатые звуки. При надавливании в области основания клюва у 10-суточных цыплят, из носовых отверстий выделялась прозрачная, слегка пенная жидкость.

При обследовании была резко затруднена фаза выдоха (стадия экспираторной одышки). На 20 сутки с момента заражения опытные цыплята

не проявляли клинических симптомов, за исключением отдельных цыплят, у которых были поражены воздухоносные мешки.

Смертность при заражении 10-суточных цыплят составляла 50%, 60-суточных – 10%, 120-суточных – 0%. Падеж в группе 10-суточных цыплят наблюдался с 5 по 8 сутки после заражения и был наиболее выражен на 7 сутки. При вскрытии трупов вынужденно убитых и павших птиц отмечались характерные для инфекционного бронхита изменения.

В третьей опытной группе, где птицу заражали штаммом «Т-12» аденовируса птиц, а затем через 12 часов штаммом «Чапаевский» вируса ИБК, через 24 часа после заражения аденовирусом ГТВ отмечали угнетение, взъерошенность оперения, снижение аппетита. Через 48 часов у птиц 10-, 60- и 120-суточного возраста появились клинические признаки ИБК в виде чихания, учащенного дыхания с инспираторной одышкой, влажными трахеобронхиальными хрипами, в меньшей степени они были выражены у цыплят 120-суточного возраста. Процент смертности в ходе опыта у 10-суточных – 85%, 60-суточных – 80%, 120-суточных – 60%. Падеж в группе 10-суточных цыплят наблюдался в первые 2-3 суток после заражения, в группах 60- и 120-суточных цыплят пик смертности приходился на 3-6 сутки заболевания.

На 3-е сутки опыта клинические симптомы наблюдались у 100% цыплят 60-, 120-суточного возраста. Отмечали понижение аппетита, усиление жажды, вялость, сонливость, в момент чихания издавали короткие хрипловатые звуки. При надавливании в области основания клюва из носовых отверстий выделялась прозрачная, слегка пенистая жидкость.

При вскрытии трупов птиц в первые 2-3 суток после заражения, в основном, изменения наблюдали в печени в виде гепатита (у цыплят 10-суточного возраста), отека легких и гидроперикардита (у 60-и 120-суточных цыплят). У птиц всех возрастных групп в печени наблюдались гиперемия, очаговые кровоизлияния, наиболее выраженные в области капсулы органа, вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов и формирование микро nekрозозов, наличие в гепатоцитах внутриядерных включений.

При гистологическом исследовании органов дыхания у птиц 60-, 120-суточного возраста обнаруживали явления острого воспаления: диффузную инфильтрацию лимфоцитами слизистой трахеи, бронхов и стенки воздухоносных мешков. Отмечали десквамацию респираторного эпителия и выпотевание серозного и серозно-слизистого экссудата в просвет трахеи, бронхов и полость воздухоносных мешков. В гепатоцитах печени обнаруживали характерные для аденовирусного гепатита - гидроперикардита тельца-включения.

Через 2-3 суток после начала гибели птиц при сохранении изменений в печени и гидроперикардите с наличием в сердечной сорочке от 5 до 10 мл жидкости, начали выявляться поражения почек, которые были увеличены и имели четкий рисунок канальцев и мочеточников. Сердечная

мышца была дряблая, светловатая. При гистологическом исследовании были установлены поражения печени, поджелудочной железы, селезенки, характерные для аденовирусной инфекции. В почках - нефрозо-нефрит, в виде сильной гиперемии и кровоизлияний, зернистой дистрофии канальцевого эпителия, отложение уратов в канальцах и мочеточниках, в сердце - миокардит.

Таблица 3.

Результаты экспериментального заражения аденовирусом гепатита с включениями-гидроперикардита и ИБК.

| Возраст | Заражение вирусом | Кол-во птиц в группе | Смертность | | Степень выраженности патанатом. изменений, характерных ГТВ, в «+» | Степень выраженности патанатом. изменений, характерных ИБК, в «+» |
|---------|-------------------|----------------------|------------|----|---|---|
| | | | гол | % | | |
| 10 | Адено | 20 | 15 | 75 | ++++ | - |
| 10 | Бронхит | 20 | 10 | 50 | - | +++- |
| 10 | Адено + бронхит | 20 | 17 | 85 | ++++ | +++- |
| 10 | Контроль | 20 | 0 | 0 | - | - |
| 60 | Адено | 20 | 14 | 70 | +++- | - |
| 60 | Бронхит | 20 | 2 | 10 | - | ++++ |
| 60 | Адено + бронхит | 20 | 16 | 80 | +++- | ++++ |
| 60 | Контроль | 20 | 0 | 0 | - | - |
| 120 | Адено | 20 | 12 | 60 | +++- | - |
| 120 | Бронхит | 20 | 0 | 0 | - | ++-- |
| 120 | Адено + бронхит | 20 | 12 | 60 | ++-- | +++- |
| 120 | Контроль | 20 | 0 | 0 | - | - |

Таким образом, ассоциированное течение аденовирусного гепатита с включениями-гидроперикардита и ИБК сопровождалось более высокой смертностью птиц, суммированием и увеличением интенсивности патоморфологических изменений во внутренних органах птиц.

3.5. Влияние аденовирусного гепатита с тельцами включениями - гидроперикардита на восприимчивость цыплят к инфицированию *E. coli*.

Аденовирусная инфекция часто протекает в ассоциации с различными бактериальными агентами, в т.ч. с колибактериозом. При воспроизведении заболевания в экспериментальных условиях нами установлено, что заражение 10-суточных цыплят аденовирусом - возбудителем гепатита с включениями - гидроперикардита значительно повышает их восприимчивость к последующему инфицированию *E. coli*, серотипом O₂. Клиниче-

ские симптомы аденовирусного гепатита-гидроперикардита при этом проявляются более интенсивно. В группе птиц с ассоциированным течением двух инфекций отмечалась высокая смертность до 90%, в то время как в группах цыплят зараженных аденовирусом и E coli, серотипом O₂ смертность составила 40% и 35% соответственно.

Наблюдали патологоморфологические изменения во внутренних органах в виде анемии, желтушности слизистых оболочек, скопление серозной жидкости в сердечной сорочке, в отдельных случаях с одновременным отложением фибрина на ней – фибринозный перикардит. Печень иногда была увеличена, желтушная, с наличием точечных кровоизлияний и очагов некроза по краям долек, отмечали сочетание указанной патологии с фибринозным перигепатитом. У 2-х цыплят из 20-ти отмечали аэросакулит, у 4-х – энтерит. В селезенке в отдельных случаях обнаруживали точечные некрозы. Поджелудочная железа слегка увеличена, бледно-розового цвета. Тимус и фабрициева сумка гипоплазированы. В гепатоцитах, железистых клетках поджелудочной железы и ретикулярных клетках селезенки находили внутриядерные тельца-включения. При ассоциированном течении аденовирусной инфекции с колибактериозом, клинические симптомы аденовирусного гепатита с включениями - гидроперикардита усиливались.

Таким образом, при ассоциации вирусной и бактериальной инфекции изменения вызванные аденовирусом гепатита с включениями – гидроперикардита оказались более выраженными и с ними проявлялись изменения, характерные колибактериозу.

3.6. Лечебно-профилактическая и терапевтическая активность бонафтона при экспериментальном аденовирусном гепатите-гидроперикардите кур.

Химиотерапия вирусных инфекций – одна из актуальных задач современной вирусологии. Учитывая возможную перспективность данного направления в проблеме лечения и профилактики вирусных болезней птиц, нами было проведено испытание противовирусного препарата «Бонафтон», обладающего широким спектром действия, в том числе и против аденовирусов.

Полученные результаты собственных исследований по изучению свойств бонафтона при аденовирусном гепатите-гидроперикардите кур дают возможность сделать некоторые обобщения по действию препарата на естественную резистентность и его лечебно-профилактический эффект при данном заболевании. Испытание эффективности бонафтона проводили на цыплятах 10-, 35-, 50- и 80-суточного возраста. Цыплятам за 12 часов до заражения патогенным штаммом аденовируса "Т-12" давали с кормом бонафтон в дозе 25, 50 и 75 мг/кг живой массы, всем возрастным группам и в последующие 5 суток продолжали давать препарат в указанной дозе. Период наблюдения составил 14 суток. Результаты применения препарата

в дозах 50 и 75 мг/кг на цыплятах 10-суточного возраста оказались одинаковыми, сохранность в этих группах равнялась 65% или 13 голов соответственно, в контрольной группе этого возраста при заражении патогенным штаммом вируса смертность к четвертым суткам составила 100%.

Второй опыт проводили на цыплятах 35-суточного возраста, поскольку во многих птицеводствах аденовирус, вызывает субклиническое течение заболевания, в возрасте 30±5 суток. В этой группе при применении препарата в дозе 50 мг/кг сохранность птиц была 80% - 16 голов, в дозе 75 мг/кг - 75% - 15 голов. В контрольной группе этого возраста при заражении патогенным штаммом вируса смертность к четвертым суткам составила 95%. При применении препарата в дозе 50 мг/кг сохранность птиц 50-суточного возраста была 75% - 15 голов, в дозе 75 мг/кг - 80% - 16 голов. В контрольной группе этого возраста при заражении патогенным штаммом вируса смертность к четвертым суткам составила 70% - 14 голов, эти результаты совпали с результатами по первой группе, где доза бонафтона равнялась 25 мг/кг, т.е. эта доза препарата является неэффективной для цыплят 50-суточного возраста. При применении препарата в дозе 50 мг/кг сохранность птиц 80-суточного возраста была 80% - 16 голов, в дозе 75 мг/кг - 85% - 17 голов. В контрольной группе этого возраста при заражении патогенным штаммом вируса смертность к четвертым суткам была 60% - 12 голов, эти результаты были схожи с результатами по первой группе (смертность 55% - 11 голов), где доза бонафтона 25 мг/кг, т.е. эта доза препарата являлась неэффективной для цыплят 80-суточного возраста. Таким образом, в группах цыплят 10-, 35-, 50- и 80-суточного возраста при экспериментальном заражении аденовирусным гепатитом - гидроперикардитом применение бонафтона из расчета 50 мг/кг живой массы показало наилучшие результаты, сохранность в них была 65%, 80%, 75% и 80% соответственно, при смертности в контрольных группах, зараженных аденовирусным гепатитом - гидроперикардитом соответственно 100%, 95%, 70% и 60%.

3.7. Влияние бонафтона на естественную резистентность цыплят и устойчивость к аденовирусной инфекции.

С целью изучения влияния бонафтона на иммунологические показатели организма птицы были проведены опыты по изучению содержания Ig G, Т- лимфоцитов, лизосомально-катионных белков (ЛКБ) и бактерицидной активности сыворотки (БАС) крови. Следует отметить, что в группе получавшей бонафтон произошло наиболее значимое достоверное увеличение уровня Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной интактной группой: у 80-суточных - на 32,5%, 50-суточных - на 9,0%, 35-суточных - 12,0%, 10-суточных - 9,0%, уровень IgG у 80-суточных увеличился на 5,0%, у 35-суточных на 26,0% и у 10-суточных на 16,0% ($P < 0,05$). Уровень ЛКБ и БАС в опытных группах, по сравнению с интактной контрольной,

повышался незначительно и находился в пределах верхних физиологических границ.

Результаты этих исследований показывают, что содержание IgG, ЛКБ и показателя бактерицидной активности сыворотки крови цыплят опытных и контрольных групп не выходили за пределы верхних и нижних границ физиологической нормы. Очевидно, что применение бонафтона не оказывало отрицательного влияния на факторы естественной резистентности организма цыплят.

Снижение уровня общего белка в группах цыплят зараженных и получавших бонафтон наблюдали у 10-суточных – на 9,0% по сравнению с интактными контрольными; на 2,7% - у 35-суточных; на 8,0% у 50-суточных и на 4,0% у 80-суточных ($P < 0,05$). В группах цыплят зараженных, но не получавших бонафтон эти цифры составили соответственно: 11,1%, 9,0%, 21,0%, 24,0%.

Показатель щелочного резерва сыворотки крови в группе зараженных и получавших бонафтон снизился на 10,8% у 10-суточных, на 6,0% у 50-суточных, и 5,2 % у 80-суточных по сравнению с незараженным контролем. У цыплят 10-, 35-, 50- и 80-суточного возраста произошло снижение показателей щелочного резерва сыворотки крови в группе зараженных но не получавших бонафтон на 14,0%, 31,0%, 10,7% и 23,1% соответственно ($P < 0,05$). На протяжении опыта содержание общего белка и щелочного резерва сыворотки крови претерпевало незначительные колебания и находилось в пределах нормативных показателей.

Таким образом, применение бонафтона за 12 часов до заражения и в последующие 5 суток – 1 раз в 24 часа, в дозе 50 мг/кг живой массы, способствовало поддержанию показателей общего белка и щелочного резерва сыворотки крови цыплят в пределах физиологической нормы и способствовало повышению уровня IgG и Т-лимфоцитов сыворотки крови птиц.

В производственных условиях ООО «Томаровский бройлер» Белгородской области были проведены научно-производственные испытания по оценке эффективности применения препарата «Бонафтон» с целью профилактики инфекционных болезней птицы, в том числе аденовирусного гепатита с включениями – гидроперикардита. Основанием для внедрения разработки явилось неблагополучие птицефабрики по некоторым инфекционным болезням птиц (в т. ч. ГТВ), которые протекали долгое время субклинически. Исследования проведены на цыплятах-бройлерах кросса «Hubbard ISA» с 1- до 42-суточного возраста. Препарат «Бонафтон» задавали птице в составе полнорационных комбикормов ПК-5 и ПК-6 один раз в сутки в дозе 50 мг/кг живой массы в течение 6 суток. Применение бонафтона позволило увеличить сохранность до 98,3 % т.е. на 4,6%, снизить смертность от ГТВ на 2,8%, сумарный экономический эффект от применения бонафтона составил 1160 руб. на 1 тыс. голов.

4. ВЫВОДЫ

- 1 Анализ эпизоотической ситуации по аденовирусному гепатиту с включениями-гидроперикардиту свидетельствует о широком распространении болезни в России. Серологическими, патоморфологическими и вирусологическими методами установлена персистенция возбудителя в 100% обследованных птицевхозах.
- 2 При заражении цыплят ГТВ штаммом «Г-12» наблюдаются характерные клинические признаки: угнетение, снижение аппетита, взъерошенность оперения, анемия, а также патологоанатомические признаки в виде гепатитов, нефрозо - нефритов. При гистологическом исследовании выявляется гепатит с характерными базофильными и эозинофильными тельцами – включениями в ядрах гепатоцитов.
- 3 Изучением патогенеза и влияния аденовирусного гепатита с тельцами включениями-гидроперикардита на характер течения инфекционного бронхита кур установлено, что ассоциированное течение сопровождается более высокой смертностью птиц, суммированием и увеличением интенсивности патоморфологических изменений во внутренних органах птиц.
- 4 При ассоциированном течении аденовирусной инфекции с колибактериозом клинические симптомы аденовирусного гепатита с включениями - гидроперикардита усиливаются, смертность в ассоциации была выше, чем при моноинфекции на 50%.
5. Изучение восприимчивости птиц кроссов «Аврора», «Бройлер-6», «Иза-браун» к аденовирусной инфекции показало более высокую устойчивость к заражению аденовирусом, возбудителем гепатита с включениями - гидроперикардита у цыплят популяции "Аврора", где сохранность составила 86,7%.
- 6 При заражении аденовирусным гепатитом - гидроперикардитом цыплят 10-, 35-, 50- и 80- суточного возраста и применении бонафтона в дозе 50 мг/кг живой массы за 12 часов до заражения и в последующие 5 суток – 1 раз в 24 часа, сохранность была выше на 65%, 75%, 45% и 40% соответственно, по сравнению с контролем
7. Использование бонафтона за 12 часов до заражения и в следующие 5 суток – 1 раз в 24 часа, в дозе 50 мг/кг живой массы, способствовало поддержанию показателей общего белка и щелочного резерва сыворотки крови цыплят в пределах физиологической нормы и повышало уровень IgG и Т-лимфоцитов
8. Применение бонафтона в производственных условиях позволило увеличить сохранность птицы до 98,3% т.е. на 4,6%, снизить смертность от ГТВ на 2,8%. Суммарный экономический эффект от применения бонафтона составил 1160 руб. на 1 тыс голов.

5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Разработана комплексная система экспресс диагностики заболевания применяющаяся в диагностическом центре ВНИВИП для исследования поступающего материала из различных птицеводческих хозяйств России.
2. Результаты исследований по испытанию противовирусного препарата бонафтона при аденовирусном гепатите с включениями – гидроперикардите кур внедрены на птицефабрике «Томаровский бройлер» (акт внедрения результатов научно-исследовательской работы от 21 мая 2002 г.)
3. Полученные данные по изучению патогенеза и диагностике аденовирусного гидроперикардита и его ассоциированного течения с другими инфекционными болезнями птиц используются в учебной работе при чтении лекций для слушателей ФПК и студентов факультета ветеринарной медицины.

6. СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бакулин В.А., Коровин В.И. Испытание противовирусного препарата бонафтона при аденовирусном гепатите-гидроперикардите кур. Материалы XIV международной межвузовской научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии» СПбГАВМ, г.Санкт-Петербург, 2001, - С.11-12.
2. Коровин В.И. Изучение влияния препарата бонафтона на иммунологические показатели организма птицы при профилактике аденовирусного гепатита-гидроперикардита. Материалы XIV международной межвузовской научно-практической конференции «Новые фармакологические средства в ветеринарии» СПбГАВМ, г.Санкт-Петербург, 2001, - С.14-15.
3. Коровин В.И. Клиническое проявление гидроперикардита как моноинфекции и его ассоциации с инфекционным бронхитом кур. Материалы VII международной научно-производственной конференции БелГСХА, г.Белгород, 2003, - С.177-178.
4. Коровин В.И. Особенности проявления экспериментальной аденовирусной инфекции на птицах различных кроссов. Материалы II международной межвузовской научно-практической конференции аспирантов и соискателей «Предпосылки и эксперименты в науке» СПбГАВМ, г Санкт-Петербург, 2004, - С.79-80.



№ - 9 178

РНБ Русский фонд

2006-4

5460