



УДК 636.5 : 636.089

ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНЫЕ БОЛЕЗНИ ПТИЦ ВИРУСНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Алиев А.С., профессор, д-р вет. наук

Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины

Алиева А.К., ассистент, канд. биол. наук

Российский государственный педагогический университет имени А.И. Герцена

Summary: The paper realizes a review of viruses, which often cause breaks of gastroenteritis at commercial poultry flocks. Such knowledge is necessary for diagnostics of gastrointestinal diseases, which can seriously damage the economics of the industry.

Аннотация: Статья представляет собой обзор вирусов, которые наиболее часто являются причиной вспышек гастроэнтеритов у промышленной птицы. Эти знания необходимы для диагностики желудочно-кишечных заболеваний, наносящих серьезный экономический ущерб птицеводству.

Ключевые слова: куры, индейки, желудочно-кишечные болезни, инфекция, диагностика, вирусы, патогенез.

Желудочно-кишечные болезни вирусной этиологии встречаются у кур и индеек всех возрастных групп, однако преимущественно болеет молодняк. Клинические признаки этих инфекций широко варьируются: от инаппаратных, вызывающих незначительный экономический ущерб, до тяжелых форм, которые приводят к крупным экономическим потерям. Исход этих инфекционных заболеваний зависит от различных взаимосвязанных факторов, таких как вирулентность возбудителя, возраст и резистентность зараженной птицы. В естественных условиях эти инфекции почти всегда осложняются другими инфекционными агентами. Кроме того, течение их зависит от условий содержания, кормления и различных факторов окружающей среды. В производственных условиях довольно сложно оценить этиологическую роль этих агентов в патогенезе возникновения у птиц того или иного заболевания.

Для разработки методов диагностики болезней птицы, вызывающих расстройства желудочно-кишечного тракта необходимы знания биологии вирусов, патогенеза заболеваний и эпизоотологических особенностей их проявления.

На сегодняшний день с помощью электронной микроскопии (ЭМ) удалось идентифицировать многие вирусы, имеющие отношение к желу-

дочно-кишечным болезням птицы. Однако детальная характеристика выделенных вирусов и оценка их роли в развитии инфекции представляют серьезную проблему, так как значительную часть вирусов трудно, а иногда и невозможно культивировать *in vitro*, так же как нелегко воспроизвести в экспериментальных условиях болезни, вызываемые ими. Дальнейший прогресс в изучении свойств энтеропатогенных вирусов и их роли в этиологии желудочно-кишечных болезней сельскохозяйственной птицы, несомненно, будет связан с разработкой методики их культивирования *in vitro*, использованием современных методов диагностики, в частности, с применением моноклональных антител и полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Вирусные гастроэнтериты широко распространены во многих странах мира с развитым птицеводством, особенно в хозяйствах промышленного типа, что наносит значительный экономический ущерб, связанный с отходом птицы, снижением производственных показателей, за счет уменьшения суточного прироста ее массы из-за потери аппетита и увеличения неоднородности стада [3].

Вирусиндуцированные поражения слизистой оболочки кишечника, во-первых, служат воротами для проникновения других потенциальных патогенов, таких как *Escherichia*

coli и *Salmonella* spp., во-вторых, энтеропатогенные вирусы сами могут вызвать заболевания при снижении неспецифических защитных механизмов (недостатке муцина, сокращении числа микроворсинок и др.). Поражения слизистой оболочки приводят к снижению адсорбции и расщеплению мальтозы, что обуславливает дефицит жирорастворимых витаминов и минералов в организме птиц. Экспериментальное заражение цыплят-бройлеров энтеропатогенными вирусами вызывает рахит, остеопороз и другие повреждения скелета. Нарушение обмена веществ в организме, связанное с этими вирусами, способствует снижению скорости роста цыплят, атрофии фабрициевой сумки и тимуса, что в свою очередь вызывает дефицит иммуноглобулинов и повышение восприимчивости к возбудителям других инфекционных заболеваний. Некоторые энтеропатогенные вирусы птиц представляют опасность для человека. Кроме того, многие вирусы с неясной этиологической ролью были идентифицированы у сельскохозяйственной птицы электронной микроскопией помета и содержимого кишечника.

Энтеровирусные инфекции птиц, поражающие желудочно-кишечный тракт, полиэтиологичны. В настоящее время известны, по крайней мере, десять групп вирусов, причастных к возникновению острых



кишечных расстройств у птиц. К ним относятся рота-, парарота-, корона-, энтеро-, адено-, рео-, астро-, калици-, пести- и парвовирусы, которые при снижении общей резистентности организма могут вызвать существенные экономические потери вследствие наложения других болезней, нарушения условий содержания и влияния неблагоприятных факторов внешней среды.

В предлагаемом обзоре представлены сведения о ротавирусах, коронавирусах, аденовирусах, реовирусах, астровирусах и парвовирусах, которые наиболее часто служат причиной вспышек гастроэнтеритов птиц.

Ротавирусы

Ротавирусы являются причиной энтеритов у многих видов птиц и млекопитающих, включая человека. Впервые ротавирусную инфекцию с признаками энтерита и повышенным отходом диагностировал Bergeland *et. al.* [6] в 1977 году у индюшат. В последующем ротавирусы были выявлены у кур, фазанов, уток, а также у диких птиц.

Ротавирусы относятся к семейству Reoviridae [14] и имеют сферическую форму, около 70 нм в диаметре. Название вируса происходит от латинского слова «rota» — колесо, которое характеризует морфологию вирионов в виде зубчатого колеса. Морфология ротавирусов, выделенных у млекопитающих и птиц, одинакова. Полные частицы вируса состоят из двух- или однослойных капсомеров. Инфекционной активностью обладают только вирионы с двойным капсидом, они достигают 70–75 нм.

Геном вируса состоит из двухцепочечной РНК, которая содержит 11 сегментов с общей молекулярной массой 12–20 МДа. Каждый сегмент РНК содержит открытую рамку считывания, которая кодирует единственный протеин. Репликация и сборка ротавирусов происходит в цитоплазме, поэтому ротавирусные частицы часто находят в вакуолях. Ротавирусы устойчивы к эфиру, низким значениям рН (3,0) и относительно устойчивы к прогреванию.

Ротавирусы птиц классифицируют в перекрестной реакции имму-

нофлуоресценции и по результатам электрофореза генома РНК в полиакриламидном геле (ПАГ). Ротавирусы, реагирующие в МФА со специфическими сыворотками к ротавирусам группы А млекопитающих, относят к ротавирусам группы А [35]. Ротавирусы со слабой перекрестной реакцией с антигеном ротавируса группы А млекопитающих относят к атипичным. Последние, в свою очередь, имеют три антигенно различающиеся группы: одна классифицирована как группа D, две другие не классифицированы.

Ротавирусы группы D были выявлены только у птиц. Электрофоретический анализ в ПАГ, основанный на миграционном различии разных сегментов генома ротавирусов, является важным инструментом при классификации и успешно используется для предварительной оценки эпизоотических штаммов. К преимуществам данного метода следует отнести то, что для его проведения используется помет или содержимое кишечника большой птицы без предварительного выделения и культивирования вируса.

Заражение ротавирусами происходит алиментарно. Источником вируса является больная и переболевшая птица, наибольшее количество возбудителя содержится в помете. Ротавирусы размножаются в дифференцированных ворсинках эпителиальных клеток тонкого отдела кишечника [32], максимальная экскреция вируса с фекалиями наблюдается через 2–5 дней после заражения [39]. На вершинах ворсинок происходит ускоренная миграция и преждевременное слущивание энтероцитов (41), замена их незрелыми эпителиальными клетками и криптами, что является причиной нарушения процесса пищеварения. Незрелые, недифференцированные клетки, которые замещают клетки, разрушенные вирусом, приводят к дефициту мальтозы, в результате чего снижается адсорбционная способность [41]. Yason и Schat [69] экспериментально доказали факт снижения адсорбции мальтозы при ротавирусной инфекции у индеек, используя с этой целью D-ксилозу.

Клинические проявления ротавирусной инфекции птиц варьируются от субклинических до тяжелых. При экспериментальном заражении основным клиническим признаком является диарея. Кроме того, может наблюдаться беспокойство птицы, ее скучивание, снижение прироста массы тела, дегидратация, увеличение падежа. В тяжелых случаях гибель птицы наступает через 2–4 суток, отход составляет от 4 до 7%. У 6–40-суточных фазанов болезнь проявляется в виде депрессии, водянистого поноса и повышенного отхода (20–30%). Клиническое проявление болезни при экспериментальном заражении ротавирусами цыплят и индюшат сильно различается: от среднего до инapparатного, что связано с различной вирулентностью ротавирусов, влиянием других инфекций, воздействием окружающей среды и условиями содержания птицы (32).

Продолжительность инкубационного периода при ротавирусной инфекции составляет 2–5 суток. Она вызывает развитие диареи у индеек и энтерита средней тяжести у цыплят. Некоторые ученые отмечают высокую чувствительность к экспериментальному заражению взрослых кур и индеек по сравнению с молодняком (69). Ротавирусы вызывают снижение яйценоскости у кур-несушек.

При вскрытии павшей птицы отмечают обезвоженность тупа, бледность слизистой оболочки кишечного тракта и вздутие слепых кишок из-за скопления жидкости и газов, а также воспаление подошвы конечностей.

Гистологические изменения выявляются в двенадцатиперстной кишке и толстом отделе кишечника. Цилиндрические клетки ворсинок заменяются плоскими, ворсинки укорачиваются, происходит их слияние, в последующем слизистая оболочка теряет ворсинки и становится гладкой.

Эпизоотология, клинические признаки и патоморфологические изменения играют вспомогательную роль при диагностике ротавирусной диареи. Наличие антител в сыворотке крови птиц также не имеет существенного значения, так как их регистрируют у большинства взрослых

птицы. Диагноз ротавирусной инфекции, как правило, основывается на выявлении и идентификации вируса или вирусного антигена с помощью электронной (ЭМ) или иммуноэлектронной микроскопии пробы помета, содержимого кишечника или соскоба со слизистой оболочки тонкого отдела кишечника. Широко применяется метод флуоресцирующих антител при исследовании мазков фекалий, отпечатков и креостатных срезов тонкого отдела кишечника, а также зараженных культур клеток.

Исследование помета с помощью ЭМ является наиболее чувствительным методом, позволяющим выявлять ротавирусы независимо от их серологических групп [62]. Иммуная ЭМ и метод флуоресцирующих антител (МФА) используются для идентификации серогрупп ротавирусов. Установлено, что детекция ротавирусной РНК в фекалиях в ПАГ по чувствительности не уступает ЭМ [62].

Из-за сложности культивирования ротавирусов, в культуре клеток при диагностике болезни изоляция возбудителя не всегда проводится. На сегодняшний день только ротавирусы группы А и, за редким исключением, отдельные штаммы серогруппы D культивируются в культуре клеток [38]. Для этого используют культуру перевиваемых клеток МА-104 или первичные культуры клеток печени эмбрионов кур и почек цыплят. Добавление трипсина (1–10 мкг/мл) в поддерживающую среду увеличивает накопление ротавирусов в перевиваемых линиях клеток и в первичной культуре почек в 100–1000 раз. Авторы полагают, что трипсин повышает проницаемость клеточных мембран и тем самым облегчает проникновение вируса внутрь клеток.

Ротавирусы выделяются с пометом в больших количествах и относительно устойчивы к воздействию различных физико-химических факторов. В помете они сохраняются длительное время, контаминируя предметы ухода, а также территорию птицефабрики. Кроме того, не исключена передача возбудителя трансвариальным путем, о чем свидетельствует выявление ротавирусов у суточных цыплят [61]. Возможно, ротавирус сохраняется на

яичной скорлупе или внутри яйца, а после массового вывода молодняка происходит его перезаражение. Вирусоносительство у птицы, а также вектор передачи возбудителя до конца не изучены.

Методы лечения и специфической профилактики ротавирусной инфекции не разработаны. Повсеместное распространение ротавирусов и их устойчивость препятствуют обеспечению стойкого благополучия птицеводческих предприятий. Профилактика этой болезни сводится к своевременной замене подстилки в неблагополучных птичниках и дезинфекции помещений, что позволяет снизить степень контаминации окружающей среды и риск заражения птицы. При возникновении заболевания и появлении диареи распространению инфекции способствует недостаточное количество подстилки. Меры по улучшению системы вентиляции, оптимизация температуры и добавление свежей подстилки способствуют снижению распространения ротавирусной инфекции и проявления негативных последствий.

Коронавирусный энтерит индеек

Коронавирусный энтерит индеек представляет собой тяжелую болезнь, поражающую индеек всех возрастов. Куры, фазаны, перепела невосприимчивы к возбудителю этой инфекции. Коронавирусный энтерит регистрируется в США, Канаде, Австрии и Индии [44,48]. При круглогодичном выращивании индеек наиболее распространенными этиологическими агентами гастроэнтеритов (на их долю приходится около 50% всех случаев диареи) являются коронавирусы, и оздоровить такие хозяйства крайне сложно.

Возбудителем болезни является РНК-содержащий вирус семейства *Coronaviridae* [66]. Вирусы данного семейства имеют характерную морфологию: они полиморфны, покрыты оболочкой, диаметр вирионов составляет от 60 до 220 нм, длина — 12–24 нм, поверхность вирионов имеет форму лепестка [66]. Коронавирусы содержат, по крайней мере, три главных структурных белка, включая большой гликопротеин в

виде выступов на поверхности вирионов (пепломеров) (S), мелкий оболочечный гликопротеин (М) и нуклеокапсидный протеин (N) [9].

Репликация коронавируса происходит исключительно в цитоплазме. Коронавирусы культивируются в куриных или индюшиных эмбрионах путем инокуляции вируса в амниотическую полость. До настоящего времени удалось адаптировать и успешно культивировать в клеточной линии аденокарциномы человека (HRT) только изолят коронавируса Quebec. Репликация вируса зависела от включения в среду трипсина и строгого контроля pH [11].

Исследованиями в иммунной электронной микроскопии, реакции торможения геммагглютинации и реакции нейтрализации установлено антигенное различие между коронавирусом индеек и вирусом инфекционного бронхита кур [11,53]. Однако в перекрестной реакции иммунофлуоресценции выявлена антигенная взаимосвязь между этими возбудителями [20] и отличие их от коронавирусов млекопитающих. Все эпизоотические штаммы коронавирусов индеек относятся к одному серотипу [47].

Экспериментальное заражение удается при пероральном и внутрибрюшинном введении вирусного материала. Введение гомогената фабрициевой сумки большой птицы взрослым индейкам вызывает острое течение болезни. Инкубационный период составляет 1–3 суток. Болезнь проявляется депрессией, водянистой диареей, потерей массы и обезвоживанием. У индюшат и ремонтного молодняка индеек болезнь появляется внезапно. Кожа в области головы и на других видимых участках тела темнеет, голова запрокидывается назад. По мере прогрессирования болезни значительную часть помета составляют ураты. Заболеваемость обычно достигает 100%, отход колеблется от 5 до 50%. Поражения, как правило, наблюдаются в тонком отделе кишечника, наполненном водянистым, газобразным содержимым.

Вирус выделяется с пометом в течение нескольких месяцев и передается фекально-оральным путем, поэтому особь старшего возраста



может быть источником инфекции и заражать молодняк [48]. Передача вируса возможна механическим путем — через обслуживающий персонал, предметы ухода, транспорт, а также свободно летающих птиц. Во внешней среде вирус может сохраняться годами [47]. Трансовариальная передача возбудителя и вектор передачи вируса не установлены.

Диагностика только на основании клинических признаков или патологоанатомических поражений затруднена. Лабораторная диагностика базируется на выделении вируса в куриных и индюшиных эмбрионах, выявлении его электронной микроскопией, МФА или с помощью серологических исследований.

Для выделения вируса вирус-содержащий материал вводят в амниотическую полость эмбрионов 6–7-суточной инкубации с последующей идентификацией вируса в препаратах из тонкого отдела кишечника эмбриона в МФА [48]. МФА может быть использован для выявления вирусного антигена в эпителии тонкого отдела кишечника и бурсы больных индеек [20]. При проведении электронной микроскопии возможны ложноположительные результаты, связанные с присутствием в исследуемых пробах фрагментов клеточных мембран, которые имеют коронавирусоподобный вид.

Предпочтительным методом выявления возбудителя является иммунная ЭМ с использованием специфических иммунных сывороток. Для идентификации вируса исследуют криостатные срезы кишечника зараженных эмбрионов индеек в непрямой реакции иммунофлуоресценции [48].

Для оздоровления неблагополучных по коронавирусной инфекции хозяйств переболевшую птицу по достижению убойных кондиций сдают на мясо с последующей очисткой и дезинфекцией помещений [48]. Высокоэффективна в профилактике болезни санация помещений сроком 3–4 недели.

Энтеровирусы

В последние годы некоторые вирусы, похожие на энтеровирусы, оказались причиной гастроэнтеритов у

кур и индеек. Эти агенты были отнесены к энтеровирусоподобным (ЭПВ), так как не были точно идентифицированы. На основании размеров вирусных частиц, морфологии, морфогенеза и обнаружения в помете их относят к энтеровирусам, однако для точной классификации необходимы дальнейшие биологические и физико-химические исследования возбудителя [34].

Энтеровирусы птиц широко распространены во всем мире. Они были выявлены у кур и индеек в Северной Ирландии [36], США [57,58], Франции [2], Малайзии [10].

Энтеровирусы являются представителями одного из девяти родов, входящих в семейство Picornaviridae [1]. Пикорнавирусы не заключены в оболочку, имеют икосаэдрическую форму. Диаметр вирусных частиц — 22–30 нм. У вирионов нет характерных особенностей, они содержат однонитевую РНК позитивной полярности, которая является инфекционной [1,19].

Роды семейства Picornaviridae разделены на основании чувствительности энтеровирусов к кислотам, плотности вирионов в хлористом цезии и клинического проявления у зараженной птицы [1]. Энтеровирусы устойчивы при значениях pH 3, а также к эфиру, хлороформу и спирту, что свидетельствует об отсутствии в них липидов [59]. Данные об их чувствительности к дезинфицирующим средствам в литературе отсутствуют.

Энтеровирусы культивируют на 6-дневных куриных эмбрионах, при этом около 50% эмбрионов погибает в течение 3–7 дней. Некоторые штаммы энтеровирусов могут размножаться на хорионаллантоисных оболочках эмбрионов (ХАО). Для культивирования штаммов FP3 и 612 используют первичную культуру клеток печени и почек кур. Наличие вируса в культуре клеток определяют в МФА, так как цитопатический эффект слабо выражен или вовсе отсутствует [40].

Энтеровирусы индеек культивируют на эмбрионах индеек 18-суточной инкубации [19]. Репликация вируса установлена в кишечнике эмбрионов. У зараженных эмбрионов двенадцатиперстная, тощая и подвздошная кишки — бледные и оте-

чные. Вирус выявляют в криостатных срезах кишечника и в его содержимом с помощью электронного микроскопа и МФА.

Репликация энтеровирусов происходит в цитоплазме энтероцитов, расположенных между верхушкой и основанием ворсинок, причем наиболее высокая концентрация вируса выявлена непосредственно около крипт. Кристаллическая структура вируса включает небольшие круглые вирусоподобные частицы диаметром около 23 нм [19, 22]. Экспериментально установлено, что энтеровирусы индюшат и цыплят размножаются преимущественно в эпителии тонкого кишечника, подвздошной кишки и в почках [21].

В естественных условиях птица заражается энтеровирусами в результате заглатывания инфицированного помета. Убедительных данных трансовариальной передачи вируса нет. Однако выделение энтеровируса из отходов инкубации [59] указывает на возможность его передачи через яйцо, по крайней мере, для некоторых штаммов.

Пероральное введение энтеровируса в организм естественного хозяина в раннем возрасте вызывает энтерит или задержку роста в зависимости от биологических свойств вируса. У СПФ-цыплят, зараженных энтеровирусами, выделенными в Японии, наблюдали диарею и высокий отход (до 53,3%) в течение 6 суток после заражения. С помощью ЭМ вирус удается выявить в содержимом кишечника через 1–3 суток после заражения. С пометом он выделяется в течение 14 суток после заражения. Однако следует учесть, что энтеровирусы выявляются даже у СПФ-птиц.

У индеек на 4-е сутки после заражения отмечают депрессию, водянистость помета, а на 8-е сутки опыта — значительное снижение прироста массы тела [60]. На вскрытии у них выявляют утолщение и расширение слепых кишок за счет скопления желтой пенистой жидкости, в тонком отделе кишечника наблюдается катаральная слизь [21, 60]. При вскрытии у цыплят, зараженных энтеровирусами, выделенными в Японии, отмечают нефроз и отложение

уратов во внутренних органах. При гистологическом исследовании в двенадцатиперстной кишке установлено уменьшение длины ворсинок, а в подвздошной и двенадцатиперстной кишках — удлинение крипт.

С диагностической целью исследуют помет в ЭМ и МФА [19, 60]. Кроме того, диагностика может осуществляться выявлением вирусного антигена в тканях кишечника или в помете с помощью МФА или ELISA [22]. Выделение вируса не имеет ши-

рокого применения, так как большинство энтеровирусов плохо адаптируется или не культивируется в культуре клеток и эмбрионах. По мнению многих исследователей, наиболее актуальной и вместе с тем сложной задачей в изучении энтеровирусов является установление степени их участия в инфекционной патологии птиц. □

Продолжение статьи читайте в следующем номере.

Для контактов с авторами:
Алиева Айзанат Кадыровна
Алиев Алаутдин Серажутдинович
e-mail: aliew.axon@mail.ru

С исчерпывающим списком литературы можно ознакомиться на сайте www.vniipr.ru, на странице «Отраслевой научно-производственный журнал».

НАТУРАЛЬНЫЙ ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ КОНТРОЛЯ NECROTIC ENTERITIS (NE) Natural Tool to Control Necrotic Enteritis

В связи с ростом потребительского спроса на натуральные птицепродукты и, соответственно, увеличением затрат на их производство компания *Chr. Hansen* (Нидерланды) разработала *GalliPro[®] Tect*, одно из первых микробных средств прямого действия 2-го поколения (*Generation 2.0*).

GalliPro[®] Tect является натуральной альтернативой антибиотиков-стимуляторов роста (*AGPs*), действие которых направлено на увеличение живой массы птицы и конверсии корма и в то же время на снижение смертности и повреждений, типичных для Necrotic Enteritis.

GalliPro[®] Tect содержит микробы *Bacillus*, которые выживают в процессе пеллетирования. Средство поступает на рынок в виде водорастворимого продукта (*GalliPro[®] Tect WS*) и сухого корма (*GalliPro[®] Tect*). Дистрибьюторами данного средства являются компании *Neogen Corporation* и *Huvepharma*.

Проведенные контрольные и полевые эксперименты свидетельствуют, что *GalliPro[®] Tect* является эффективным инструментом для уменьшения случаев Necrotic Enteritis у цыплят-бройлеров. Когда есть проблема с *Clostridium perfringens*, результаты показывают значительное снижение смертности и интенсивности повреждений скоров ЖКТ.

Necrotic enteritis — серьезное осложнение здоровья, когда птица теряет способность переваривать нутриенты корма, и возникает риск смерти в течение нескольких дней. Мало того, что это ведет к страданиям птицы, но и наносит серьезный ущерб производителю. Недавно проведенное обследование в ЕС показало, что экономический удар от NE на глобальное птицеводство оценивается ежегодно на уровне \$2 млрд.

«World Poultry». Июль, 2009.

ВИРУСОВАКЦИНЫ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ И ЕЁ ПРОФИЛАКТИКИ:

Бор-74
/ВГНКИ/ (сухая)

25 фл. по 3000 доз

Цена: **29** руб/тыс. доз



Н (сухая)

10 амп. по 100 доз

Цена: **39** руб/тыс. доз



Владивак
Ла-Сота (сухая)

по 1000 доз

Цена: **36.80** руб/тыс. доз



bionit

Россия, 600014, г. Владимир, ул. Лакина, д. 4-Б, а/я 11,
тел./факс: (4922) 34-16-21; 31-00-79; 34-00-68
E-mail: bionit@rambler.ru www.bionit.ru