

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ „ION IONESCU DE LA BRAD” – IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA BOLI INFECȚIOASE**

Doctorand Vlad Mihai DUMA

TEZĂ DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat
Prof. Univ. Dr. VELESCU Elena**

**IAȘI
2017**

**UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCE AND
VETERINARY MEDICINE „ION IONESCU DE LA
BRAD” – IASSY
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE
VETERINARY MEDICINE DOMAIN
SPECIALITY INFECTIOUS DISEASES**

PhD Vlad Mihai DUMA

DOCTORAL THESIS

**PhD Coordinator
Prof. Univ. Dr. VELESCU Elena**

**IASSY
2017**

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ „ION IONESCU DE LA BRAD” – IAȘI
FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ
DOMENIUL MEDICINĂ VETERINARĂ
SPECIALIZAREA BOLI INFECȚIOASE**

Doctorand Vlad Mihai DUMA

**Cercetări privind metodologia de
diagnostic, profilaxie și combatere în
unele boli respiratorii la curci crescute
în sistem intensiv**

**Teză pentru obținerea titlului de „Doctor în științe”
Domeniul Medicină Veterinară**

**Conducător de doctorat
Prof. Univ. Dr. VELESCU Elena**

**IAȘI
2017**

**UNIVERSITY AGRICULTURAL SCIENCE AND
VETERINARY MEDICINE „ION IONESCU DE LA
BRAD” – IASSY
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE
DOMAIN VETERINARY MEDICINE
SPECIALITY INFECTIOUS DISEASES**

Phd. Vlad Mihai DUMA

**Researches regarding the
methodology of diagnosis,
prevention and control in some
respiratory diseases in turkeys
intensively reared**

**PhD coordinator
Prof. Univ. Dr. VELESCU Elena**

**IASSY
2017**

CUPRINS

LISTĂ ABREVIERI	09
INTRODUCERE	10
REZUMAT	12

PARTEA I STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

CAPITOLUL 1. NOȚIUNI PRIVIND ANATOMIA ȘI FIZIOLOGIA APARATULUI RESPIRATOR LA CURCI (MELEAGRIDIS GALLOPAVO)	22
1.1. Anatomia și fiziologia aparatului respirator- respirația la păsări	22
1.1.1. Circulația aerului prin pulmonii păsărilor	24
1.1.2 Schimbul de gaze	25
1.2 Sistemul imun specific aparatului respirator	26
1.2.1 Țesutul limfoid paraocular	27
1.2.2 Țesutul limfoid asociat mucoasei nazale	27
1.2.3 Răspunsul imun al țesutului traheal	28
1.2.4 Țesutul limfoid asociat bronhiilor	28
1.2.5 Sistemul imun din zona schimburilor de gaze	29
1.2.6 Sistemul fagocitar al tractusului respirator	29
1.2.7 Neutralizarea particulelor în tractusul respirator	30
1.2.8 Sistemul IgA secretorie din tractusul respirator	31
1.2.9 Reglarea sistemului imun-molecule și celule implicate în răspunsul imun înăscut	31
CAPITOLUL 2. PRINCIPALELE BOLI INFECȚIOASE CU TROPISM RESPIRATOR ÎNTÂLNITE LA CURCI CRESCUTE ÎN SISTEM INTENSIVE	34
2.1. Rinotraheita infecțioasă a curcilor	34
2.1.1. Etiologie	35
2.1.2 Impact economic și sanitar	37
2.1.3 Istoric și epidemiologie	37
2.1.4 Patogeneza	38
2.1.5 Tablou clinic	39
2.1.6 Tabloul anatomopatologic	40
2.1.7 Diagnostic	40
2.1.8 Măsuri de profilaxie și combatere	41
2.1. Infecția cu Ornitobacterium rinotracheale	43
2.2.1. Istoric	43
2.2.2. Etiologie	44
2.2.3. Tablou clinic	45
2.2.4. Tablou anatomopatologic	46
2.2.5. Diagnostic	47
2.2.6. Profilaxia și controlul bolii	48

PARTEA II CONTRIBUȚII PERSONALE

CAPITOLUL 3. CADRUL ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE	51
3.1. Cadrul natural	51
3.2. Cadrul organizatoric și instituțional	52
CAPITOLUL 4. SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR	54
CAPITOLUL 5. STUDIUL EPIDEMIOLOGIC ÎN INFECȚIILE RESPIRATORII CU TRT ȘI ORT LA CURCI ÎN SISTEM INTENSIV	56
5.1. Scopul cercetărilor	57
5.2. Materiale și metode	57
5.3. Rezultate și discuții	57
5.4. Concluzii parțiale	75
CAPITOLUL 6. INVESTIGAȚII CLINICE SI ANATOMOPATOLOGICE PRIVIND INFECȚIILE RESPIRATORII DETERMINATE DE RINOTRAHEITA INFECȚIOASĂ A CURCILOR (TRT) ȘI INFECȚIILE CU ORNITOBACTERIUM RINOTRACHEALE (ORT) LA CURCANI	76
6.1. Scopul cercetărilor	76
6.2. Materiale și metode	76
6.3. Tablou clinic și anatomopatologic în rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT)	77
6.3.1. Tablou clinic în rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT)	77
6.3.2. Tablou anatomopatologic în rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT)	82
6.4. Tablou clinic și anatomopatologic în infecțiile cu Ornitobacterium rinotracheale (ORT)	84
6.4.1. Tablou clinic în infecțiile cu ornitobacterium rinotracheale (ORT)	84
6.4.2. Tablou anatomopatologic în infecțiile cu Ornitobacterium rinotracheale (ORT)	86
6.5. Concluzii parțiale	90
CAPITOLUL 7. IMPLEMENTAREA UNEI METODOLOGII DE PROFILAXIE SPECIFICĂ CU PRIVIRE LA INFECȚIILE RESPIRATORII DETERMINATE DE TRT ȘI ORT LA CURCANI	91
7.1. Scopul cercetărilor	91
7.1. Materiale și metode	91
7.1.1. Test de detectare a anticorpilor pentru Metapneumovirusul aviar la pui și curcani Avian Rinotracheitis Antibody Test Kit (Bio Check)	91
7.1.2. Test de detectare a anticorpilor pentru Ornitobacterium rinotracheale la pui și curcani Ornithobacterium rhinotracheale Antibody Test Kit (Bio Check)	94
7.1.3. Kit ELISA Avian Pneumovirus Antibody APV (Idexx Laboratories)	96
7.1.4. ELISA <i>Ornitobacterium rinotracheale</i> Antibody test kit (Idexx ORT)	97
7.1.5. Kit RT-PCR pentru detecția Metapneumovirusului aviar LSI VetMAXTM (Life technologies)	98
7.1.6. Vaccin viu-atenuat contra rinotraheitei infecțioase a curcilor Aviffa Rti (Merial)	102
7.1.7 Construcții de vaccinuri bacteriene autogene (Vaxxinova, Germania)	103
7.1.8. Tehnica MALDI TOF MS	104
7.1.9. Animale utilizate	105
7.20. Analiza datelor	105

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

7.3. Rezultate și discuții	105
7.3.1. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la ferma Agro Nariman	106
7.3.2. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la ferma Cărpiniș	111
7.3.3. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la Ferma 6 (Sighișoara)	124
7.3.4. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la ferma Romad Otis	132
7.3.5. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la Ferma 1	140
7.3.6. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la Ferma 2	147
7.3.7. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la Ferma 5	156
7.3.8 Limitele vaccinării	163
7.4. Concluzii parțiale	165
CAPITOLUL 8. STUDIUL PRIVIND IMPACTUL ECONOMIC AL STRATEGIILOR APLICATE	167
8.1. Scopul cercetărilor	167
8.2. Impactul economic al startegiilor imunoprofilactice TRT-ORT aplicate	167
8.3. Concluzii parțiale	174
CAPITOLUL 9. CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI	175
BIBLIOGRAFIA	183
ANEXE	194

TABLE OF CONTENTS

ABBREVIATIONS	9
INTRODUCTION	10
ABSTRACT	12
 PART I CURRENT STATE OF KNOWLEDGE	
CHAPTER 1. ANATOMY AND PHYSIOLOGY OF TURKEY RESPIRATORY APPARATUS (MELEAGRIDIS GALLOPAVO)	22
1.1. Anatomy and physiology of the respiratory apparatus - breathing in birds	22
1.1.1. Air circulation through bird's lungs	24
1.1.2. Gas exchange	25
1.2. The immune system specific to the respiratory system	26
1.2.1. Paraclear lymphoid tissue	27
1.2.2. Lymphoid tissue associated with the nasal mucosa	27
1.2.3. Immune response of tracheal tissue	28
1.2.4. Bronchial lymphoid tissue	28
1.2.5. Immune system near to gas exchange area	29
1.2.6. The phagocytic system of the respiratory tract	29
1.2.7. Neutralization of the particles in the respiratory tract	30
1.2.8. The secretory Ig A system of the respiratory tract	31
1.2.9. Regulation of immune system-molecules and cells involved in innate immune response	31
CHAPTER 2. THE MAIN INFECTIOUS DISEASES WITH RESPIRATORY TROPISM IN TURKEYS INTENSIVELY REARED	34
2.1. Infectious rhinotracheitis of turkeys	34
2.1.1. Etiology	35
2.1.2. Economic and health impacts	37
2.1.3. History and epidemiology	37
2.1.4. Pathogenesis	38
2.1.5. Symptoms	39
2.1.6. Anatomopathological modifications	40
2.1.7. Diagnostic	40
2.1.8. Prevention and control measures	41
2.1. Infections with <i>Ornithobacterium ruminantium</i>	43
2.2.1. History	43
2.2.2. Etiology	44
2.2.3. Symptoms	45
2.2.4. Anatomopathological modifications	46
2.2.5. Diagnostic	47
2.2.6. Prophylaxis and disease control	48

PART II PERSONAL CONTRIBUTIONS

CHAPTER 3. ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK	
WHERE THE RESEARCH HAVE BEEN UNDERTAKEN	51
3.1. The natural framework	51
3.2. Organizational and institutional framework	52
CHAPTER 4. GOAL AND OBJECTIVE	54
CHAPTER 5. EPIDEMIOLOGICAL STUDY IN RESPIRATORY INFECTIONS	
WITH TRT AND ORT IN TURKEYS IN INTENSIVE SYSTEM	56
5.1. The purpose of the research	57
5.2. Materials and methods	57
5.3. Results and discussion	57
5.4. Partial conclusions	75
CHAPTER 6. CLINICAL AND ANATOMOPATHOLOGICAL	
INVESTIGATION CONCERNING RESPIRATORY INFECTIONS	
TRIGGERED BY INFECTIOUS RHINOTRACHEITIS (TRT) AND WITH	
ORNITOBACTERIUM RINOTRACHEALE (ORT) IN TURKEYS	76
6.1. The purpose of the research	76
6.2. Materials and methods	76
6.3. Clinical and anatomopathological picture in infectious turkey rhinotracheitis	77
(TRT)	
6.3.1. Symptoms in infectious turkey rhinotracheitis (TRT)	77
6.3.2. Anatomopatological modifications in infectious turkey rhinotracheitis (TRT)	82
6.4. Clinical and anatomopathological picture in infections with <i>Ornitobacterium</i>	
<i>rinotracheale</i> (ORT)	84
6.4.1. Symptoms in infections with <i>Ornitobacterium rinotracheale</i> (ORT)	84
6.4.2. Anatomopatological modifications in infections with <i>Ornitobacterium</i>	
<i>rinotracheale</i> (ORT)	86
6.5. Partial conclusions	90
CHAPTER 7. IMPLEMENTATION OF A SPECIFIC PROPHYLAXIS	
METHODOLOGY REGARDING THE RESPIRATORY INFECTIONS	
CAUSED BY TRT AND ORT IN TURKEYS	91
7.1. The purpose of the research	91
7.1. Materials and methods	91
7.1.1. Antibody Test Assay for Avian Metapneumovirus in Chickens and Turkeys	
Avian Rinotracheitis Antibody Test Kit (Bio Check)	91
7.1.2. Antibody Test Assay for <i>Ornitobacterium rinotracheale</i> in chickens and	
turkeys <i>Ornitobacterium rinotracheale</i> Antibody Test Kit (Bio Check)	94
7.1.3. ELISA Kit Avian Pneumovirus Antibody APV (Idexx Laboratories)	96
7.1.4. ELISA <i>Ornitobacterium rinotracheale</i> Antibody test kit (Idexx ORT)	97
7.1.5. RT-PCR kit for detection of LSI VetMAX™ avian metapneumovirus (Life	
technologies)	98
7.1.6. Live attenuated vaccine against infectious rhinotracheitis of turkeys Aviffa	
Rti (Merial)	102
7.1.7 Construction of autogenous bacterial vaccines (Vaxxinova, Germany)	103
7.1.8. MALDI TOF MS technique	104

7.1.9. Animals used	105
7.20. Data analysis	105
7.3. Results and discussion	105
7.3.1. Results and discussions on the implementation of a specific prophylaxis methodology for respiratory infections caused by TRT and ORT in turkey hybrids at Agro Nariman farm	106
7.3.2. Results and discussions on the implementation of a specific prophylaxis methodology for respiratory infections caused by TRT and ORT in turkey hybrids at Cărpiniș farm	111
7.3.3. Results and discussions on the implementation of a specific prophylaxis methodology for respiratory infections caused by TRT and ORT in turkey hybrids at Ferma 6 (Sighișoara)	124
7.3.4. Results and discussions on the implementation of a specific prophylaxis methodology for respiratory infections caused by TRT and ORT in turkey hybrids at Romad Otis	132
7.3.5. Results and discussions on the implementation of a specific prophylaxis methodology for respiratory infections caused by TRT and ORT in turkey hybrids at Ferma 1	140
7.3.6. Results and discussions on the implementation of a specific prophylaxis methodology for respiratory infections caused by TRT and ORT in turkey hybrids at Ferma 2	147
7.3.7. Results and discussions on the implementation of a specific prophylaxis methodology for respiratory infections caused by TRT and ORT in turkey hybrids at Ferma 5	156
7.3.8 Limits of vaccinations	163
7.4. Partial conclusions	165
CHAPTER 8. STUDY ON THE ECONOMIC IMPACT OF APPLIED STRATEGIES	167
8.1. The purpose of the research	167
8.2. The economic impact of applied strategies for TRT-ORT immunoprophylaxis	167
8.3. Partial conclusions	174
CHAPTER 9. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS	175
REFERENCES	183
ANNEXES	194

ABREVIERI / ABBREVIATIONS

ADN/DNA – acid dezoxiribonucleic/ desoxyribonucleic acid

TRT/TRT – rinotraheita infecțioasă a curcilor/infectious rinotracheitis of turkeys

ORT/ORT – Infecții produse de *Ornitobacterium rinotracheale*/ Infections caused by *Ornitobacterium rinotracheale*

MALDI TOF – spectrofotometrie de masă/ matrix-assisted laser desorption/ionization

RT-PCR – reacția în lanț a polimerazei în timp real/ real time polimeraze chain reaction

INTRODUCERE

Creșterea curcilor ocupă un loc important în industria avicolă, alături de găini, rate și prepelițe, contribuind la dezvoltarea acestui sector, care joacă un rol important în dezvoltarea economică și nutrițională a diferitelor populații. Din totalul populației avicole, curcile reprezintă aproximativ 2%. Aceste păsări sunt crescute în special pentru carnea lor, fiind considerată o carne slabă comparativ cu a altor specii de păsări. Fermele de creștere a curcilor nu sunt răspândite pe teritoriul României, ferme de acest gen fiind întâlnite la ora actuală doar în județele Brașov și Mureș.

Comparativ cu România, creșterea curcilor este foarte populară în țările occidentale, însă cea mai mare producătoare de carne de curcan este SUA, urmată de Canada, Germania, Polonia, Franța, Italia și Marea Britanie. În aceste țări, consumul de carne de curcan pe cap de locuitor variază între 4 și 8 kg/an, cel mai mare consumator fiind considerat Israelul, cu o medie de 11.25 kg/ an. Se estimează că în anul 2000, producția mondială de carne de curcan a fost de 4.95 milioane de tone, în timp ce în anul 2013 producția a ajuns la 5.17 milioane de tone (conform FAOST database și International Poultry Council: <http://www.Internationalpoultrycouncil.org/documents/TopTurkeyProduction.pdf>).

Creșterea broilerului de curcă în sistem intensiv permite realizarea unei producții ridicate de carne pe unitatea de suprafață, iar carnea obținută este de calitate superioară remarcându-se printr-un conținut de fier, zinc, magneziu, vitamina B12, elemente esențiale menținerii sănătății. Carnea de curcă se remarcă și prin conținutul redus în colesterol ceea ce o face recomandabilă la toate categoriile de vârstă.

Bolile respiratorii ale curcanilor crescuți în sistem intensiv pot avea un impact economic negativ prin nerealizarea sporului în greutate, creșterea procentului de mortalitate, un cost ridicat cu medicația, cât și cu numărul mare de confiscări la abatorizare.

Controlul principalelor boli respiratorii ale curcanilor presupune un diagnostic corect al acestora la momentul potrivit pentru a putea interveni la timp. Reușita controlului depinde în mare măsură atât de diagnosticul acestora, cât și de planul de imunoprofilaxie și combatere abordat.

Principalii agenți etiologici implicați în producerea bolilor respiratorii la curcani sunt: Pneumovirusul aviar și *Ornitobacterium rhinotracheale*.

La noi în țară, literatura de specialitate nu a semnalat date cu privire la cercetări științifice care să vizeze aceste entități infecțioase la curcani.

Acest aspect, coroborat cu importanța acestor boli în cazul curcanilor crescuți în sistem intensiv, reprezintă motivația proiectului, respectiv elaborarea unor studii și cercetări cu privire la modalitățile de diagnostic, profilaxie și combatere ale acestora în cadrul fermelor de curcani ce aparțin grupului de firme PENEȘ.

Rezultatele acestor studii și cercetări vor trebui să contribuie la dezvoltarea cunoașterii și să deschidă accesul altor cercetători la informație, permițându-le extinderea cercetărilor.

INTRODUCTION

The growth of turkeys occupies an important place in the poultry industry, along with hens, quays and quails, contributing to the development of this sector, which plays an important role in the economic and nutritional development of different populations. Of the total poultry population, turkeys account for approximately 2%. These birds are raised especially for their meat, being considered a lean meat compared to other bird species. The turkey breeding farms are not spread on the territory of Romania, and farms of this kind are currently only found in the counties of Brasov and Mureș.

Compared with Romania, the growth of turkeys is very popular in western countries, but the largest producer of turkey meat is the USA, followed by Canada, Germany, Poland, France, Italy and the United Kingdom. In these countries, the consumption of turkey meat per capita varies between 4 and 8 kg/year, the largest consumer being considered Israel, with an average of 11.25 kg/year. World production of turkey meat is estimated to have been 4.95 million tonnes in 2000, while production in 2013 reached 5.17 million tonnes (according to the FAO database and the InternationalPoultryCouncil:<http://www.Internationalpoultrycouncil.org/documents/TopTurkeyProduction.pdf>).

The growth of intensive turkey broiler allows for a high production of meat on the surface unit, and the meat obtained is of superior quality, with iron, zinc, magnesium, vitamin B12, essential for maintaining health. Beef is also distinguished by its low cholesterol content, making it advisable for all age groups.

Respiratory diseases of turkeys raised in an intensive system may have a negative economic impact by not achieving weight gain, increasing mortality rates, high medication costs, and high seizures in slaughterhouses.

The control of the main respiratory diseases of turkeys requires a correct diagnosis at the right time to be able to action on time. The success of the control depends to a large extent on both their diagnosis and the immunoprophylaxis and control plan approached.

The main etiological agents involved in the production of respiratory diseases in turkeys are: infectious rinotracheitis virus of turkeys and infections with *Ornitobacterium rhinotracheale*.

In our country, the literature has not reported data on scientific research targeting these infectious entities in turkeys.

This aspect, corroborated with the importance of these diseases in intensive breeding turkey, is the motivation of the project, namely the development of studies and researches on the ways of their diagnosis, prophylaxis and control in the turkeys which are part of PENEȘ group of companies.

The results of these studies and research will have to contribute to the development of knowledge and open up other researchers access to information, allowing them to expand their research.

REZUMAT

Sectorul avicol de creștere a curcanilor pentru carne reprezintă unul dintre cele mai dinamice sectoare avicole, chiar dacă nu a ajuns încă la nivelul sectorului de creștere a broilerilor de găină. Această dinamică manifestă o tendință de expansiune în noi piețe unde consumul de carne de curcan a fost până nu demult la niveluri foarte mici dar nevoia de avea o alternativă viabilă la carnea de pui și calitățile nutriționale superioare ale cărnii de curcan au reprezentat principalul motor de expansiune al acestei ramuri a zootehniei.

În creșterea broilerului de curcă și, în general în creșterea zootehnică intensivă pentru producția de carne, bolile respiratorii au reprezentat întotdeauna o provocare continuă și din ce în ce mai presantă ținând cont și de avansul geneticii în crearea de hibridi la care realizarea celui mai rapid spor de creștere a fost dezideratul esențial. În acest sens virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) precum și *Ornitobacterium rinotracheale* reprezintă doi dintre cei mai importanți agenți infecțioși respiratori din patologia infecțioasă a curcanilor cu puternice implicații sanitar-veterinare dar și economico-financiare.

Metapneumovirusul aviar ce afectează tractusul respirator superior la curcani și determină rinotraheita infecțioasă a curcanilor (TRT), iar la alte specii el este implicat în apariția unei afecțiuni cu etiologie polifactorială denumit „Sindromul capului umflat” la broilerul de găină, a fost raportat pentru prima dată în Africa de Sud în anii 1970, urmând ca un deceniu mai târziu el să-și facă apariția și în exploatațile avicole din Europa. De la acel moment prezența TRT a fost semnalată în toată lumea, inclusiv în Statele Unite ale Americii.

Acest paramyxovirus aviar cuprinde patru subtipuri (A, B, C și D), iar la ora actuală subtipul B fiind izolat și identificat cel mai adesea la nivel european, motiv pentru care și industriile conexe așa cum este cea producătoare de preparate imunologice s-a concentrat cel mai frecvent tot pe același subtip ca substrat vaccinal. Rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT) prezintă o importanță deosebită pentru industria avicolă de creștere a broilerului de curcă, în principal, prin pierderile foarte mari pe care acesta le provoacă atât în mod direct prin mortalitate și nerealizarea indicatorilor tehnologico-economici, cât și indirect prin creșterea costurilor în ceea ce privește imunizările specifice și tratamentele medicamentoase aplicate. Acest metapneumovirus aviar are o răspândire foarte rapidă și, de cele mai multe ori, reprezintă doar factorul declanșator al sindromului respirator la curcan, el fiind cel care pregătește terenul pentru grefarea ulterioară de infecții respiratorii sinergice.

Infecțiile produse de *Ornitobacterium rinotracheale* au fost observate încă din anul 1991, însă prima caracterizare a fost efectuată abia doi ani mai târziu, iar după o perioadă foarte scurtă de timp prezența acestei bacterii a fost semnalată în toată lumea la aproape toate speciile de păsări. La ora actuală au fost caracterizate și identificate 18 serotipuri (denumite de la A la R), iar la curcani cel mai adesea au fost izolate serotipurile A, B, D și E. Din cauza acestei variabilității foarte mari până în prezent nu există încă construcții vaccinale comerciale care să ofere rezultate satisfăcătoare, motiv pentru care în prevenirea și controlul acestei entități morbide la curcani și pentru a limita eventualele pierderi se recurge la utilizarea de vaccinuri autogene și la instaurarea unui tratament medicamentos adecvat imediat ce s-a instalat la nivelul unității de creștere un sindrom respirator acut.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Pentru a putea face o evaluare cât mai corectă a infecțiilor cauzate de către virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor și de către *Ornitobacterium rinotracheale*, planul de măsuri care se va implementa va fi unul de ansamblu care va avea în vedere totalitatea factorilor biotici nocivi implicați în apariția și dezvoltarea bolilor respiratorii de grup, pentru a obține cea mai crescută eficacitate a planului de măsuri întreprinse.

Teza de doctorat cu titlul „**Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv**” a avut ca scop principal acela de a identifica, în condiții de producție, principalii agenți infecțioși din patologia respiratorie a hibridilor de curcă ce manifestă un impact deosebit asupra acestei industrii dar și cuantificarea impactului și evaluarea eficacității principalelor măsuri de diagnostic, profilaxie și combatere implementate la nivelul unităților de creștere și îngrășare care au participat la cercetări în perioada 2010-2016.

Prezenta teză de doctorat se întinde pe un număr total 198 de pagini, 46 de tabele și 126 de figuri și, conform normativelor aflate în vigoare, ea este constituită din două părți principale și anume: prima parte intitulată „**Stadiul actual al cunoașterii**” care cuprinde 29 de pagini și cinci figuri și partea a doua intitulată „**Contribuții personale**”, extinsă pe 132 de pagini, 46 de tabele și 121 de figuri.

„**Stadiul actual al cunoașterii**” cuprinde două capitole în care sunt expuse succint informații din literatura de specialitate cu referire la subiectul tezei de doctorat și care au fost utilizate ulterior pentru interpretarea și compararea datelor obținute în partea de „**Contribuții personale**”.

Primul capitol, intitulat „**Noțiuni privind anatomia și fiziologia aparatului respirator la curci (Meleagris gallopavo)**” este structurat în două subcapitole și sintetizează informațiile din literatura de specialitate cu privire la anatomia și fiziologia aparatului respirator- respirația la păsări precum și informații importante privind sistemul imun specific aparatului respirator.

În ultimul capitol ce încheie partea de studiu bibliografic în domeniul temei de cercetare doctorală cercetate sunt expuse prin documentare științifică temeinică și de ultimă oră informații despre principalele boli infecțioase cu tropism respirator întâlnite la curci crescute în sistem intensiv. Dintre infecțiile virale respiratorii ale hibridilor de curcă crescuți în sistem intensiv pentru producția de carne, aceste cercetări s-au oprit asupra rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) boală ce a fost tratată pe larg în primul subcapitol din acest capitol al tezei de doctorat. În cel de-al doilea subcapitol a fost tratat pe larg dintre infecțiile bacteriene ale curcanilor infecțiile cauzate de *Ornitobacterium rinotracheale* și implicările acestei în patologia respiratorie infecțioasă la această specie.

Partea de „**Contribuții personale**” debutează cu capitolul 3 intitulat „**Cadrul organizatoric și instituțional în care s-au desfășurat cercetările**”. În acest capitol este descris mai întâi cadrul natural cu localizarea geografică (administrativ-teritorială) a locului de desfășurare a cercetărilor, fiind astfel individualizate cele șapte unități zootehnice de creștere și îngrășare a curcanilor, respectiv Agro Nariman, Cărpiniș, Ferma 6, Romad Otis, Ferma 1, Ferma 2 și Ferma 5 amplasate pe raza județelor Brașov și Mureș, precum și numărul de serii repartizat pe fiecare fermă în parte în perioada 2010-2016. Apoi s-a recurs la prezentarea cadrului organizatoric și instituțional în care s-au desfășurat cercetările, prezentând succint toate cele șase unități de cercetare și diagnostic implicate în realizarea acestui demers academic.

În capitolul 4 a fost prezentat scopul principal al cercetărilor efectuate, precum și cele patru obiective principale urmărite în realizarea dezideratului științific propus.

În următorul capitol, intitulat „**Studiul epidemiologic în infecțiile respiratorii cu TRT**”

și ORT la curci în sistem intensiv” s-a efectuat o investigație epidemiologică retrospectivă ce a cuprins perioada 2010-2016 în ceea ce privește indicatorul epidemiologic mortalitate la toate fermele luate în studiu de la populare până la livrarea spre abator. Această anchetă a vizat 82 de serii de creștere și îngrășare a hibrizilor de curcă reprezentând 8659750 de indivizi. Procentul de mortalitate înregistrat în perioada și în fermele de creștere și îngrășare luate în studiu a înregistrat o valoare medie de 7,61% din care 5,74% la curci (înregistrând valori extreme de 1,2% și 23,8%) și 9,71% la curcani (înregistrând valori extreme de 3,37% și 35,13%).

Procentul cel mai crescut de mortalitate la curci și curcani a fost înregistrat în anul 2012 (14,34%), în timp ce mortalitatea cea mai redusă s-a înregistrat în anul 2011 (5,25%). În funcție de hibridul de carne utilizat ca și material genetic se remarcă la curci, cea mai redusă valoare mediană a mortalității s-a înregistrat la hibridul BUT 6 (3,12%), în timp ce la curcani mortalitatea cea mai redusă s-a înregistrat la hibridul Grade Maker (7,81%). În plus, s-a constatat că atunci când s-a utilizat o singură sursă de material genetic și un singur hibrid, indicatorul mortalitate înregistrat a avut o valoare medie de 6,18% (3,67% la curci și 8,69% la curcani) în timp ce atunci când s-au utilizat mai multe tipuri de broileri ce au provenit din surse multiple același indicator epidemiologic a înregistrat o valoare medie de 9,34% (8,09% la curci și 10,59% la curcani).

Dacă se analizează intervalul de vârstă corelat cu indicatorul mortalitate, s-a evidențiat că perioada imediat după populare (primele 21 zile) constituie intervalul de vârstă cu cea mai crescută incidență a indicatorului epidemiologic mortalitate, indiferent de sex, tip de broiler sau țara de proveniență, dar și intervalul 8-12 săptămâni are o importanță deosebită prin prisma implicațiilor de ordin economic provocate de mortalitate la vârste mari.

„Investigații clinice și anatomopatologice privind infecțiile respiratorii determinate de rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT) și infecțiile cu ornitobacterium rinotracheale (ORT) la curcani” efectuate în capitolul 6 al tezei de doctorat au indicat că bolile respiratorii la curcanii crescuți în sistemul industrial sunt greu de diferențiat doar pe baza tabloului clinic și lezional, necesitând investigații de laborator pentru certitudine. Chiar dacă atât semnele clinice, cât și tabloul lezional nu prezintă elemente specifice bolilor luate în studiu, rezultatele furnizate de acestea pot orienta protocolul de diagnostic în continuare, ceea ce este de o importanță vitală pentru medicul veterinar practician care poate aplica cele mai eficiente măsuri în cel mai scurt timp posibil, limitând astfel la minimum eventualele pierderi.

Cea mai complexă cercetare din lucrarea de față este prezentată în capitolul 7 intitulat **„Implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la curcani”** și a constatat în implementarea celei mai eficiente metodologie prin care să fie instaurat cel mai adecvat protocol de profilaxie specifică în ceea ce privește infecțiile respiratorii în care sunt implicați TRT și ORT dar și în evaluarea eficacității măsurilor implementate efectuându-se în acest sens și o analiză calitativă prospectivă utilizând metode serologice, bacteriologice și de biologie moleculară.

Practic, mai întâi fermele au fost grupate în trei mari categorii în funcție de mai mulți factori și anume: ferme cu presiune microbiană redusă (Agro Nariman, Cărpiniș și Ferma 6), ferme cu presiune medie (Romad Otis) și ferme cu presiune microbiană crescută (Ferma 1, Ferma 2 și Ferma 5). Apoi, în funcție de această catalogare s-a implementat cel mai potrivit protocol de imunizare specifică TRT și ORT și s-a evaluat eficacitatea măsurilor întreprinse. Indiferent de gradul de încărcătură microbiană exogenă existentă la nivelul fiecărei unități zootehnice participante la studiu s-au efectuat câte trei screeninguri serologice pentru fiecare fermă, fiecărui screening serologic fiindu-i alocat o serie de creștere și îngrășare a hibrizilor de curcă.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

În cazul fermelor cu presiune microbiană exogenă redusă (Agro Nariman, Cărpiniș și Ferma 6) nu s-a recurs la imunizare specifică pentru ORT dar s-a efectuat imunizare specifică pentru TRT (două administrări la screeningul 1, respectiv câte cinci imunizări la celelalte screeninguri), iar rezultatele obținute au indicat faptul că protocolul imunologic utilizat a înregistrat rezultate favorabile, măsurile fiind considerate a fi suficiente în condițiile date.

La Romad Otis după ce în prima serie s-a imunizat pentru TRT utilizând o schemă de vaccinare ce a cuprins două vaccinări și nu s-a imunizat specific împotriva ORT iar rezultatele au fost defavorabile, înregistrându-se pierderi considerabile, astfel că s-a decis ca începând din seria următoare (screeningul 2) să se efectueze imunizare pentru prima dată în această unitate zootehnică de creștere și îngrășare a curcanilor contra ORT (două administrări de vaccin autolog utilizând tulpini din focar izolate de la seria precedentă) completată de imunizările multiple pentru TRT. Rezultatele comparative au arătat fără echivoc eficacitatea protocolului profilactic specific implementat.

La fermele cu presiune microbiană crescută s-a instaurat încă de la început un protocol imunoprofilactic specific ce a constatat în vaccinări multiple pentru TRT (două, cinci sau chiar șase administrări) precum și în vaccinare pentru ORT (două administrări de autovaccin), ceea ce a dus la o îmbunătățire a indicatorilor tehnico-sanitar și implicit a celor economico-financiari comparativ cu seriile anterioare, demonstrând astfel eficacitatea măsurilor întreprinse.

Cercetările efectuate au indicat faptul că sinergismul TRT-ORT, TRT-ORT și alte bacterii este prezent, de regulă TRT joacă rolul de factor declanșator, fiind apoi urmat de ORT precum și alte bacterii cum ar fi *Bordetella bronhiseptica*, *Rimerella anapestifer*, *Pseudomonas aeruginos*, *Escherichia coli* etc. ce au fost identificate utilizând metode de laborator.

În ceea ce privește imunizarea împotriva virusului rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) cercetările efectuate au indicat faptul că gradul de rezistență la această boală este direct proporțional cu numărul de imunizări specifice fenomen remarcat dacă se compară seriile imunizate de două ori cu cele imunizate de cinci ori pe parcursul vieții.

Rezultatele obținute în urma efectuării testului cantitativ real time PCR în ceea ce privește virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT), au dus la identificarea subtipurilor A și/sau B în toate amplasamentele zootehnice participante la studiu.

Rezultatele furnizate de spectrometria de masă MALDI TOF, coroborate cu cele furnizate de amplificarea genică cantitativă prin real time PCR au dus la identificarea prezenței bacteriei *Ornitobacterium rinotracheale*, serotipurile A, B, C, E sau I/J în toate fermele luate în studiu.

Rezultatele obținute, indiferent de tipul fermei zootehnice au indicat faptul că protocolul implementat a reprezentat în mod constant cea mai viabilă opțiune aducând o îmbunătățire a indicatorilor urmăriți, iar imunizarea specifică atât pentru TRT cât și pentru ORT a avut un rol decisiv în consolidarea imunității locale, chiar dacă nu au putut furniza imunitate completă împotriva tulpinilor sălbatice.

Pentru a aduce o argumentație în plus măsurilor implementate la capitolul anterior s-a dovedit a fi foarte necesară și utilă și o altfel de analiză, mult mai strictă ce a fost reprezentată în capitolul 8 „**Studiul privind impactul economic al strategiilor aplicate**” unde este argumentată și din punct de vedere economic eficiența programului imunoprofilactic implementat în creșterea hibridilor de curcă în sistem intensiv în România.

În cazul fermelor amplasate pe platforma avicolă Codlea (Ferma 1, 2 și 5), unde presiunea microbiană este crescută se constată un cost cu imunizările cuprins între 39% și 41%, iar în cazul fermei Romad Otis unde presiunea microbiană este medie se constată un cost al

imunizărilor de 37%. În schimb, în cazul fermelor cu presiune scăzută (Cărpiniș, Agro Nariman și Ferma 6) costurile cu imunizarea se situează între 14% și 20% din bugetul total alocat pentru acțiunile sanitar-veterinare care reprezintă doar 5.90% din totalul cheltuielilor înregistrate cu o serie.

Eficacitatea măsurilor imunoprofilactice implementate în ceea ce privește TRT și ORT rezidă atât din cheltuielile directe cu vaccinurile care nu reprezintă decât 1.68% din costurile totale ale unei serii, cât și din impactul pozitiv al acestor măsuri evaluate prin scăderea mortalității la vârste critice, scăderea numărului de reforme la abator, scăderea costurilor de neutralizare și implicit prin creșterea cantității de carne livrate spre valorificare dar și a calității acesteia.

Ca în orice lucrare cu caracter științific, ultimul capitol este cel de „**Concluzii și recomandări**” în care sunt prezentate sintetic un număr de 18 concluzii și 16 recomandări ce se desprind din lucrarea de față.

ABSTRACT

The turkey poultry sector is one of the most dynamic poultry sectors, even if it has not yet reached the superior level of broiler breeding sector. This dynamics shows a trend of expansion in new markets where the consumption of turkey meat was until very recently at very low levels, but the need to have a viable alternative to chicken and the superior nutritional qualities of turkey meat were the main engine of expansion of this animal livestock branch.

In the growth of turkey broiler and, in general in the intensive livestock breeding for meat production, respiratory diseases have always been a continuous and increasingly pressing challenge, taking into account the advance of genetics in the creation of hybrids to which the rapid growing was the key desideratum. Infectious turkey rhinotracheitis virus (TRT) and *Ornitobacterium rinotracheale* are two of the most important respiratory infectious agents in the infectious turkey pathology with strong sanitary-veterinary and economic-financial implications.

Avian metapneumovirus affects the upper respiratory tract in turkeys and causes turkey infectious rhinotracheitis disease (TRT), and in other species it is involved in the occurrence of a disease with polyfactorial etiology called "swollen head syndrome" in the chicken broiler, was reported for the first time In South Africa in the 1970s, and a decade later he would also appear in poultry holdings in Europe. Since then, the presence of TRT has been reported worldwide, including the United States of America.

This avian paramyxovirus include four subtypes (A, B, C and D), and in present the subtype B is isolated and identified most often at European level, which is why the related industries, such as the one producing the immunological preparations, are using more frequently the same subtype as the vaccine substrate. Infectious turkey rhinotracheitis (TRT) have a particular importance for the turkey broiler breeding industry, mainly due to the very high losses it causes both directly through mortality and the lack of technological and economic indicators, as well as indirectly through increased costs for specific immunizations and applied drug treatments. This avian metapneumovirus has a very rapid spread and, most of the time, it is only the triggering factor of the respiratory syndrome in the turkey, it is the one that prepares the ground for subsequent engraftment of synergistic respiratory infections.

Infections produced by *Ornitobacterium rinotracheale* have been observed since 1991, but the first characterization was performed only two years later, and after a very short period of time, the presence of this bacterium has been reported worldwide in almost all bird species. At present, 18 serotypes (identified from A to R) have been characterized and identified, but the serotypes A, B, D and E were most often isolated in turkeys. Due to this very large variability to date, there are not yet commercial vaccines constructions which can provide satisfactory results, which is why the prevention and control of this morbid entity in turkeys are to limited to reduce the possible losses using the autogenous vaccines and the introduction of appropriate medical treatment as soon as it has been installed at the unit of growth acute respiratory syndrome.

In order to make a fair evaluations of infections caused by infectious rhinotracheitis virus of turkeys and by *Ornitobacterium rinotracheale*, the plan of measures to be implemented

will be one that will take into account all the harmful biotic factors involved in the occurrence and the development of respiratory diseases group, to achieve the highest effectiveness of the action plan undertaken.

The doctoral thesis entitled "**Researches regarding the methodology of diagnosis, prevention and control in some respiratory diseases in turkeys intensively reared**" aimed primarily to identify the main infectious agents in the respiratory pathology of hybrids which shows a particular impact on this industry, but also quantifies the impact and assesses the effectiveness of the main diagnostic, prophylaxis and combating measures implemented at the level of breeding and fattening units that participated in research in 2010-2016.

This doctoral thesis covers a total of 198 pages, 46 tables and 126 figures and, according to the norms in force, it consists in two main parts, namely the first part entitled "**The Current Stage of Knowledge**" which cover 29 pages and five figures, and the second part, entitled "**Personal Contributions**", spreaded over 113 pages, 46 tables and 121 figures.

The "Current state of knowledge" consists on two chapters summarizing information from the literature referring to the subject of the PhD thesis and subsequently used for the interpretation and comparison of the data obtained in the "**Personal Contributions**" part.

The first chapter, named "**The concepts of anatomy and physiology of respiratory apparatus in turkeys (Meleagris gallopavo)**", is structured in two subchapters and synthesizes information from the literature regarding anatomy and physiology of the respiratory apparatus - breathing process in birds and as well as important information concerning the specific immune system of the respiratory immunity.

In the last chapter which end the bibliographic study part in the field of researched doctoral research there are exposed by thorough scientific documentation and latest information on the main infectious diseases with respiratory tropism encountered in turkeys intensive breeding system. Between the respiratory viral infections of turkey hybrids raised in the intensive system for meat production, these researches were focused on infectious turkey rhinotracheitis (TRT), which was extensively treated in the first subchapter of this chapter of the doctoral thesis. In the second subchapter, bacterial infections of turkeys were extensively treated regarding infections caused by *Ornithobacterium rhinotracheale* and its implications in infectious respiratory pathology for this species.

The "**Personal Contributions**" section debuts with Chapter 3 entitled "**The organizational and institutional framework in which the research was conducted**". In this chapter is described firstly the natural framework with the geographical (administrative-territorial) location of the research site, thus are individualized all the seven livestock breeding and fattening units of the turkeys, respectively Agro Nariman, Cărpiniș, Ferma 6, Romad Otis, Farm 1, Farm 2 and Farm 5 located in the districts of Brașov and Mureș counties, as well as the number of series distributed on each farm in 2010-2016 period of time. Then, we presented the organizational and institutional framework where the research was carried out, briefly presentation of all six research and diagnostic units involved in this academic work.

In Chapter 4 was presented the main purpose of the researches carried out, as well as the four main objectives pursued for the realization of the proposed scientific goal.

In the following chapter, entitled "**Epidemiological Study of Respiratory Infections with TRT and ORT in Intensive Turkeys**", a retrospective epidemiological investigation was carried out covering the period 2010-2016 regarding the epidemiological mortality indicator on all farms taken starting on first day after population until delivery to the slaughterhouse. This investigation targeted 82 series of breeding and fattening turkey hybrids representing 8659750 individuals. The mortality rate recorded in the growing and fattening period studied in this

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

research registered a average of 7.61%, of which 5.74% in hens (extreme values of 1.2% and 23.8%), and 9.71% in turkeys (extreme values of 3.37% and 35.13%).

The highest mortality rate for hens and turkeys was recorded in 2012 (14.34%), while the lowest mortality was recorded in 2011 (5.25%). Depending on the type of meat hybrid used as a genetic material in the hens, the lowest median mortality was recorded in the BUT 6 hybrid (3.12%), while in turkeys the lowest mortality was recorded in the Grade hybrid Maker (7.81%). In addition, it was found that when a single source of genetic material and a single hybrid was used, the registered mortality indicator had an average of 6.18% (3.67% in hens and 8.69% in turkeys) in while the same epidemiological indicator recorded an average had a value of 9.34% (8.09% for hens and 10.59% for turkeys) when multiple types of broilers were used from multiple sources.

When were analyzed the age range correlated with the mortality indicator, it was shown that the period immediately after the population (the first 21 days of life) represents the age range with the highest incidence of the epidemiological mortality indicator, regardless of sex, type of broiler or country of origin, and in addition, the range of 8-12 weeks have a particular importance in terms of the economic implications of age-related mortality.

"Clinical and anatomopathological investigations of respiratory infections caused by Infectious rhinotracheitis of turkeys (TRT) and rhinotracheal orthobacterium (ORT) infections in turkeys" represent the chapter 6 of the Ph.D. thesis where have shown that respiratory diseases in turkeys raised in the industrial system are difficult to be differentiated only on the basis of the clinical and lesional picture, and that requiring laboratory investigations for certainty. Even if both clinical signs and lesional pictures do not present disease-specific elements, the results provided by them may guide the on-going diagnostic protocol, which have a vital importance for the practitioner who can apply the most effective measures as soon as possible, thus minimizing possible losses.

The most complex research in this paper is presented in Chapter 7 entitled **"Implementation of a specific prophylaxis methodology for respiratory infections caused by TRT and ORT in turkeys"** and consisted in implementing the most effective methodology by which the most appropriate prophylaxis protocol for the reperfusion injuries involving TRT and ORT, but also is evaluated the effectiveness of the implemented measures, and is make a prospective qualitative analysis using serological, bacteriological and molecular biology methods.

Practically, the farms were first grouped into three main categories according to several factors: farms with low microbial pressure (Agro Nariman, Carpiniș and Farm 6), medium-pressure farms (Romad Otis) and farms with increased microbial pressure (Farm 1, Farm 2 and Farm 5). Then, according to this catalog, the most appropriate TRT and ORT specific immunization protocol was implemented and the efficacy of the measures undertaken was assessed. Unconcerned of the exogenous microbial load existent at each zootechnical unit participating in the study, there were three serological screenings for each farm, each serological screening being assigned a series of growth and fattening of turkey hybrids.

In the case of farms with low exogenous microbial pressure (Agro Nariman, Cărpiniș and Farm 6), no specific immunization for ORT was performed, but specific immunization for TRT (two doses at screening 1, respectively five immunizations at the other screenings) was performed and the results obtained showed that the immunological protocol used had favorable results, the measures being considered to be sufficient under the given conditions.

At Romad Otis after immunizing for the TRT in the first series using a vaccination schedule that included two vaccinations and did not specifically immunize against ORT and the results were unfavorable, considerable losses being recorded, so it was decided that starting from the next series (screening 2) to carry out immunization for the first time in this zootechnical breeding and fattening unit of turkeys against ORT (two autologous vaccine administrations using isolated outbreak strains from the previous series) supplemented with multiple immunizations for TRT. The comparative results showed unequivocally the effectiveness of the specific prophylactic protocol implemented.

In the farms with high microbial pressure, a specific immunoprofilactic protocol consisted of multiple vaccinations for TRT (two, five or even six administrations) as well as vaccination for ORT (two administrations of autovaccin), which resulted in to an improvement of the technical and sanitary indicators and implicitly of the economic and financial ones compared to the previous series, thus demonstrating the effectiveness of the measures taken.

Research has shown that the synergism TRT-ORT, TRT-ORT and other bacteria is present, as a rule TRT plays the role of trigger factor, followed by ORT as well as other bacteria such as *Bordetella bronchiseptica*, *Rimerella anapestifer*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, etc. which have been identified using laboratory methods.

Regarding immunization against infectious turkey rhinotracheitis virus (TRT), research has shown that the degree of resistance to this disease is directly proportional to the number of specific immunizations noted phenomenon when compare the immunized series twice with those immunized five times during life.

The results obtained following the quantitative real time PCR test on turkey infectious rhinotracheitis virus (TRT) led to the identification of subtypes A and/or B in all zootechnical sites participating in the study.

The results provided by mass spectrometry using MALDI TOF, corroborated with those provided by quantitative gene amplification by real time PCR, resulted in the identification of *Ornitobacterium rhinotracheale* bacteria, serotypes A, B, C, E or I/J in all the studied farms.

The results obtained, irrespective of the type of zootechnical farm, indicated that the implemented protocol was constantly the most viable option, bringing an improvement of the indicators pursued, and the specific immunization for both TRT and ORT played a decisive role in strengthening local immunity, Even if they were unable to provide complete immunity against wild strains.

In addition to support the measures implemented in the previous chapter, it has proved to be very necessary and useful a much more stringent analysis that was presented in Chapter 8 "**The Study on the economic impact of applied strategies**" where it is also argued economic point of view the effectiveness of the immunoprofilactic program implemented in the growing and fattening of intensive turkey hybrids in Romania.

In the case of farms located on the Codlea poultry platform (Farm 1, 2 and 5), where microbial pressure is increased, there is a cost of immunizations ranging from 39% to 41%, and for Romad Otis where the microbial pressure is at medium level, there is a cost of immunizations of 37%. In contrast, for low-pressure farms (Cărpiniș, Agro Nariman and Farm 6), immunization costs range from 14% to 20% of the total budget allocated to sanitary veterinary actions, which represents only 5.90% of the total expenditure registered with a series

The effectiveness of immunoprofilactic measures implemented regard to TRT and ORT are both direct expenditure on vaccines that account for only 1.68% of the total costs of a

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

series and the positive impact of these measures assessed by decreasing mortality at critical ages, decreasing the number of reformed in the slaughterhouse, reducing the costs of neutralization and, implicitly, increasing the quantity of meat delivered for sale but also its superior quality.

As in any scientific work, the last chapter is "**Conclusions and Recommendations**" in which there are synthetically presented 18 conclusions and 16 recommendations that come out of this paper.

CAPITOLUL 1
NOȚIUNI PRIVIND ANATOMIA ȘI FIZIOLOGIA
APARATULUI RESPIRATOR LA CURCI
(MELEAGRIDIS GALLOPAVO)
CHAPTER 1
ANATOMY AND PHYSIOLOGY OF TURKEY
RESPIRATORY APPARATUS (MELEAGRIDIS GALLOPAVO)

1.1 Anatomia și fiziologia aparatului respirator- respirația la păsări

Respirația la păsări s-a specializat în raport cu zborul, cântatul, dar și cu o activitate în general intensă (Perry Gilbert, 1939).

Aparatul respirator aviar, mai bine zis sistemul pulmoni-saci aerieni a fost investigat în mod continuu de numeroși cercetători de-a lungul a patru secole și jumătate (Coitier, 1573), din secolul XVI datând și primele noțiuni privind aparatul respirator la păsări. În anul 1970, Farner a clasificat sistemul respirator al păsărilor ca fiind cel mai controversat din lumea animală.

Aparatul respirator aviar diferă de cel de la mamifere prin faptul că prezintă compartimente diferite atât pentru schimbul de gaze (pulmonii) cât și pentru ventilație (saci aerieni), făcându-l astfel mult mai eficient comparativ cu alte vertebrate (James et al., 1976, Maina 2005, 2006). Prin acest sistem respirator se asigură oxigenarea țesuturilor și eliminarea dioxidului de carbon (CO₂). În plus, sistemul respirator joacă un rol important în termoreglare (menținerea temperaturii corpului în limite normale).

Aparatul respirator începe de la nivelul nărilor, continuă cu un pasaj până la nivelul coanelor, faringelui și mai apoi cu laringele. Traheea, având aceeași lungime cu cea a gâtului, este cuprinsă de la nivelul laringelui până la nivelul sirinxului, unde se bifurcă în două bronhii primare extra-pulmonare. Păsările prezintă inele traheale închise complet, astfel încât traheea nu poate suferi fenomenul de colaps. De la nivelul fiecărei bronhii primare se desprind câte patru grupuri de bronhii secundare (medio-ventrală, medio-dorsală, latero-ventrală și latero-dorsală), iar de la nivelul acestora se desprind parabronhii multiple cu o lungime de câțiva mm și diametru de 0.5-2.0 mm (Maina, 1989; Fedde, 1980). Pereții acestor parabronhii conțin sute de capilare aeriene fine, care se divid și anastomozează, înconjurate de o rețea profuză de capilare sangvine (Welty and Batista, 1988). Schimbul de gaze propriu-zis se realizează la nivelul capilarelor aeriene.

Pulmonii păsărilor sunt structuri complexe și rigide, bine ancorate de pereții toracici. Ventral, pulmonii sunt ancorați de septul orizontal, dorsal de vertebre, iar

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

dorso-lateral de coaste. Aproximativ 1/5 din volumul pulmonului este cuprins între coaste și vertebre (King and Molony, 1971). În momentul când un pulmon este extras dintre vertebre și coaste, acesta nu colabează în mod semnificativ, cum și în timpul vieții modificările de volum din inspirație și expirație nu diferă mai mult de 1.4% (Jones et al., 1985).

Rigiditatea pulmonilor la păsări este vitală în constituirea unui sistem respirator deosebit de eficient deoarece permite subdivizarea parenchimului la nivelul căruia se realizează schimbul de gaze. Acest lucru se datorează faptului că subdivizarea parenchimului în unități respiratorii funcțional stabile nu este influențată semnificativ de către tensiunea surfactantă, așa cum se întâmplă în cazul pulmonului la mamifere, care își modifică forma și volumul în timpul inspirației și expirației (Duncker, 1971, 1972; Maina and Nathaniel, 2001; Woodward and Maina, 2008; Maina, 2015).

Cavitățile corpului nu sunt separate de diafragmă; cavitatea toracică prezintă o presiune atmosferică normală, în schimb la mamifere presiunea este negativă; de aceea ventilația este asigurată printr-o singură etapă de transport al aerului prin intermediul sacilor aerieni. Astfel, sacii aerieni ocupă orice spațiu disponibil din cavitatea celomică neocupată de viscere.

Sacii aerieni permit circulația unidirecțională a aerului prin pulmonii. Circulația unidirecțională semnifică faptul că aerul care circulă prin pulmonii păsării este un aer proaspăt și cu o concentrație crescută în oxigen. În schimb, la mamifere, circulația aerului este bidirecțională, adică circulația este înainte și înapoi ”în interiorul și spre exteriorul pulmonului”. Drept consecință, aerul care intră în pulmonii mamiferelor se amestecă cu aerul rezidual, acest amestec având o concentrație mai scăzută în oxigen. Așadar, în pulmonii păsărilor se găsește o cantitate mai mare de oxigen care să difuzeze în sânge (Fedde, 1980; Reese et al., 2006). Sistemul pulmonar aviar utilizează ventilația prin trecerea coloanei de aer, bazându-se mai departe pe nouă perechi de saci aerieni care se comportă ca un burduf pentru a deplasa aerul prin pulmonii a căror structură este aproape rigidă (Powel, 2000). Acest sistem menține un volum de aer constant în interiorul pulmonilor, o condiție esențială pentru menținerea condiției de zbor. O mică porțiune din sacii aerieni sunt integrați în schelet, dând naștere la buzunare mici de aer în structura densă a oaselor. Funcția exactă a acestor modificări de la nivel osos nu este pe deplin cunoscută, însă o explicație ar consta în faptul că aceste buzunare de aer ar ușura structura oaselor, permițând păsărilor să zboare.

Cele nouă perechi de saci aerieni, sărac vascularizați și sub forma unor foițe fine sunt dispuși astfel: o pereche de saci aerieni cervicali, un sac aerian clavicular conectat la fiecare pulmon, o pereche de saci aerieni toracali cranieni, o pereche de saci toracali caudali și o pereche de saci abdominali (figura 1.1).

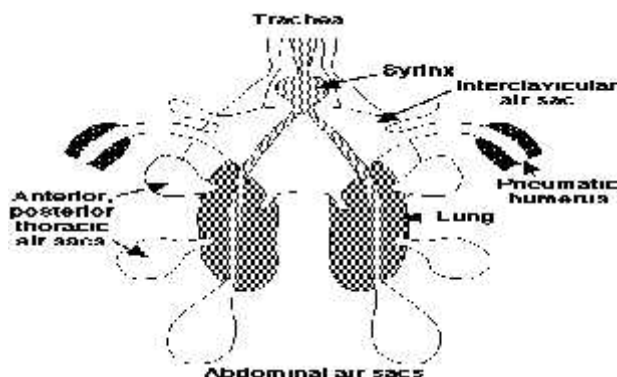


Fig. 1.1 Structura aparatului respirator la păsări

Sursa: <http://numbat.murdoch.edu.au/Anatomy/avian/fig3.2.GIF>

Fig. 1.1 Structure of avian respiratory apparatus

Source: <http://numbat.murdoch.edu.au/Anatomy/avian/fig3.2.GIF>

Sacii aerieni cervicali, clavicular și toracali cranieni provin din bronhia secundară medio-ventrală, fiind denumiți și saci aerieni cranieni. Sacii aerieni toracali caudali și cei abdominali iau naștere din bronhiile secundare medio-dorsale și latero-ventrale, dar și din continuarea bronhiei primare intrapulmonare (Fedde, 1998; Powell, 2000; Reese et al., 2006). Sacii aerieni cranieni își au originea din paleopulmon, în timp ce sacii aerieni caudali din neopulmon (Dyce et al., 2010).

1.1.1 Circulația aerului prin pulmonii păsărilor

Deoarece păsările nu dispun de diafragmă, ele prezintă o singură cavitate toraco-abdominală, care din punct de vedere funcțional se comportă ca un compartiment unic. În timpul inspirației sternul se mișcă atât în sens cranial cât și ventral, în timp ce procesele coracoide și carena sternală se rotesc simultan înainte. Coastele sternale se mișcă de asemenea în sens cranial, ceea ce duce la extensia laterală a coastelor sternale și a cavității toraco-abdominale. Atât inspirația, cât și expirația sunt procese active ce implică diferite grupe musculare (Akers and Denbow, 2013).

În timpul inspirației, contractura activă a unor grupe musculare din pereții toracali și abdominali va duce la creșterea volumului de aer din sacii aerieni, rezultând o presiune mai scăzută decât cea atmosferică și mișcarea aerului din pulmoni către sacii aerieni. Aerul inspirat va trece în totalitate prin deschiderea bronhiei secundare medio-ventrale (Reese et al., 2006). În schimb, atât în procesul de inspirație, cât și în cel de expirație, coloana de aer va străbate bronhiile secundare medio-dorsale și latero-ventrale. Aproximativ jumătate din volumul de aer inspirat va trece prin parabronhiile paleopulmonului și de aici în sacii aerieni cranieni, în timp ce volumul rămas va trece prin rețeaua mult mai redusă formată din parapronhia neopulmonului spre sacii aerieni caudali, dar și spre sacii abdominali printr-o legătură directă formată

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv de bronhia primară intrapulmonară.

În timpul expirației, reducerea în volum a cavității toraco-abdominale este urmată de creșterea presiunii asupra sacilor aerieni și de expulzarea aerului din interiorul acestora. O parte din aerul provenit din sacii aerieni caudali va traversa din nou parabronhiile neopulmonului, iar cea mai mare parte va pătrunde prin parabronhiile paleopulmonului, circulând în aceeași direcție ca și în timpul inspirației. Pentru a fi eliminat la exterior, aerul provenit din sacii aerieni cranieni va ieși prin bronhia secundară medio-ventrală fără a intra în contact cu suprafețele parabronhiolare unde se realizează schimbul de gaze. De aceea, schimbul de O_2 și CO_2 dintre aer și sânge are loc atât în inspirație cât și în expirație, iar aproape întreaga cantitate de aer ce a fost inhalată, la un moment dat al ciclului respirator, a intrat în contact cu suprafețele de schimburi de gaze situate în parabronhiile paleopulmonului (figura 1.2) Pereții parabronhiilor sunt perforați de numeroase deschideri care duc în atrul respirator. Un infundibul în formă de pâlnie ia naștere din atriu și se deschide către capilarele aeriene. Astfel, aerul inspirat va circula prin lumenul parabronhiilor, apoi prin peretele de schimb către atriu, spre indundibul și prin rețeaua de capilare aeriene (Marien, 2006).



Fig. 1.2 Circulația aerului prin sistemul respirator în timpul inspirației (stânga) și expirației (dreapta)(după Reese et al., 2006).

Fig.1.2 Air flow through the avian respiratory system during inspiration (left) and expiration (right). 1 - interclavicular air sac, 2 - cranial thoracic air sac, 3 - caudal thoracic air sac, 4 - abdominal air sac (From: Reese et al. 2006).

1.1. 2 Schimbul de gaze

În pulmonii păsării oxigenul difuzează prin difuziune simplă din capilarele aeriene în sânge, iar dioxidul de carbon din sânge în capilarele aeriene (Brown et al., 1995).

Țesutul pulmonar parabronhiolar este principalul țesut implicat în schimbul de gaze (Barnas et al. 1991; Duncker 1971, 1972; Scheid & Piiper 1970). Cei doi pulmoni sunt atașați ferm de coaste și dorsal de coloana vertebrală, fiind cuprinși de la intrarea în torace până la marginea caudală a glandelor suprarenale și cranial de rinichi (Duncker 1971, 1972). Pulmonii păsărilor sunt relativ mici comparativ cu mamiferele,

iar parabronhiile sunt inextensibile. Există două tipuri de țesut parabronhiolar, iar raporturile dintre cele două poate varia în funcție de specie. Țesutul parabronhiolar paleopulmonar se întâlnește la toate speciile și cuprinde majoritatea volumului pulmonar (McLelland, 1989). În acest țesut, circulația aerului în timpul ciclului respirator este unidirecțională. Țesutul parabronhiolar neopulmonar este întâlnit la majoritatea speciilor, însă mai bine dezvoltat este la păsările domestice, ocupând aproximativ 20-25% din volumul pulmonului (Fedde, 1980). Circulația aerului prin parabronhiile neopulmonare este bidirecțională (McLelland, 1989). Pentru ca aerul inspirat să fie schimbat complet sunt necesare două cicluri de inspirație-expirație (Scheid and Piiper, 1989). Cea mai mare cantitate din aerul inspirat inițial este direcționat către sacii aereni caudali. Astfel, aerul circulă din sacii aereni caudali în pulmoni la prima expirație printr-un sistem de valve aerodinamice unice (Powel and Scheid, 1989). Din pulmoni aerul este direcționat către sacii aereni cranieni la a doua inspirație și apoi către trahee și exterior, cu ocazia celei de-a doua expirații. Astfel, un ciclu complet de două inspirații-expirații permite o circulație continuă a aerului prin țesuturile cu rol în schimbul de gaze (figura 1.3)

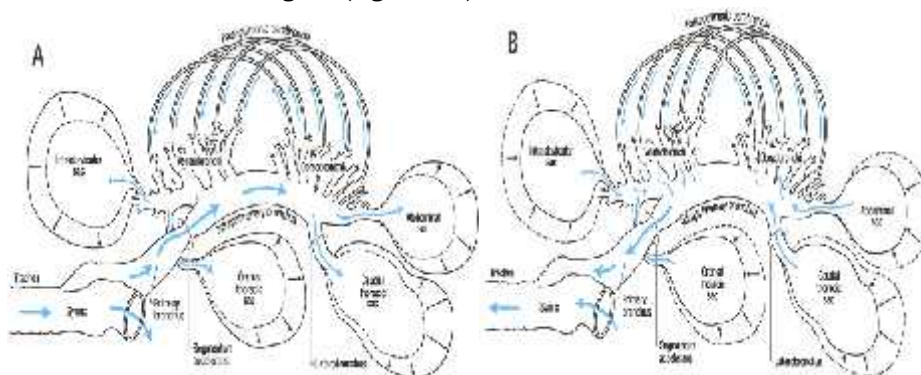


Fig. 1.3 Reprezentarea schematică a direcției circulației aerului prin aparatul respirator aviar în timpul inspirației (A) și expirației (B) (Ludders, 2001)

Fig. 1.3 Schematic representation of the pathway of gas flow through the avian pulmonary system during inspiration (A) and expiration (B) (Ludders, 2001).

Bariera sânge-gaze din interiorul pulmonilor de pasăre este cu aproximativ 56-67 % mai subțire comparativ cu cea de la un mamifer cu masă corporală identică, iar suprafața respiratorie este cu 15% mai mare (Maina et al., 1989). În timp ce suprafața respiratorie mai mare împreună cu o barieră tisulară mai fină măresc eficiența respiratorie, totuși caracteristicile acestor structuri predispun păsările la apariția unor leziuni pulmonare produse de diferiți agenți toxici din mediu sau la invazia acestuia cu agenți patogeni (Sturkie, 1986, Whittow, 2000, Reese et al., 2006; Marien, 2006).

1.2 Sistemul imun specific aparatului respirator

Pentru a-și îndeplini funcția sa primară, și anume aceea de a furniza oxigen și de a elimina dioxidul de carbon, sistemul respirator se află într-o ventilație continuă.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Ca o consecință a acestui fenomen, particulele și microorganismele sunt inhalate în mod inevitabil o dată cu coloana de aer.

Sistemul intensiv de creștere a păsărilor este asociat frecvent cu încărcături ridicate de praf și agenți patogeni în aer, prin urmare constituind un stres asupra sistemului respirator (Glisson, 1998; Villegas, 1998). Tot în aceeași măsură, unele particule antigenice pot fi administrate în mod intenționat în aparatul respirator sub forma aerosolilor, fiind dovedit că această metodă de vaccinare este foarte eficientă.

Păsările nu prezintă limfonoduri, care la speciile de mamifere reprezintă principalul loc de prezentare a antigenului (Kaiser and Balic, 2015, Scanes, 2015).

Sistemul imun de la nivelul aparatului respirator și-a dezvoltat strategii foarte eficiente de a îndepărta particulele inhalate, dar și de a răspunde în mod adecvat contactului cu microorganismele care reușesc să depășească bariera epitelială, menținând astfel integritatea și funcționarea sa optimă. Pe lângă tractusul respirator în sine, există și alte componente anatomice care pot intra în contact cu aerosolii și microorganismele, așa cum este glanda Harder, țesutul limfoid asociat conjunctivei și organele paranazale. Aceste structuri dețin foliculi limfoizi organizați, dar și limfocite difuze, ceea ce indică rolul lor în imunoprotecția mucoaselor asociate capului (Rose, 1981). Secreția glandei Harder este responsabilă de lubrifierea membranelor nictitante, fiind mai departe eliminată prin ductul lacrimal în cavitatea bucală, de unde poate fi înghițită, inhalată sau expectorată. Pe această cale, anticorpii secretorii și factorii antimicrobieni produși de glanda Harder și de către glandele nazale pot intra în contact cu mucoasele de la nivelul capului și traheii (Hartle and Kasper, 2014).

1.2.1 Țesutul limfoid paraocular

Glanda Harder (GH) reprezintă cea mai bine studiată componentă de la nivelul țesutului limfoid asociat capului. Țesutul glandular limfoid este constituit din două componente histologice (Olah et al., 1996). Celulele B de la nivel glandei Harder își au originea în bursa lui Fabricius, lucru demonstrat și experimental, când în urma bursectomiei s-a observat o reducere considerabilă a celulelor plasmactice în GH, concomitent cu o scădere a concentrației imunoglobulinelor lacrimale (Kowalski et al., 1978; Baba et al., 1990). În schimb, referitor la celelalte componente limfoide de la nivelul capului, cum ar fi țesutul limfoid asociat ochilor și țesutul limfoid asociat conjunctivei, nu cunosc suficiente informații. Totuși, în dezvoltarea imunologică a țesutului limfoid asociat conjunctivei, câțiva cercetători au pus în evidență o structură celulară asemănătoare GH, cum ar fi celulele B, celule γ , δ și T (van Ginkel et al., 2012).

1.2.2 Țesutul limfoid asociat mucoasei nazale

În timpul inspirației, mucoasa nazală este primul țesut care vine în contact cu aerosolii și microorganismele. În timp ce particulele și microorganismele pot fi îndepărtate mecanic prin secreția de mucus, agenții patogeni invazivi trebuie să fie

controlați cu ajutorul sistemului imun. La nivel nazal, limfocitele sunt dispuse în mucoasa nazală, în mucoasa glandelor nazale laterale, dar și în canalele lor secretorii. Astfel, limfocitele se găsesc răspândite în primul rând în epiteliul respirator fie sub acesta, și inconstant în regiunea vestibulară a cavității nazale și în regiunea olfactivă (Oshima and Hiramatsu, 2000). În timp ce celulele CD81 sunt distribuite în epiteliu și în lamina propria, celulele T CD4⁺ sunt răspândite masiv în structurile limfoide din stratul sub epitelial. Aceste structuri sunt denumite țesuturi limfoide asociate cavităților nazale (TLACN) (Oshima and Hiramatsu, 2000). Suprafața acestor foliculi limfoizi este acoperită de un strat de celule neciliate. Celulele Big1 se găsesc în structurile TLACN și sunt diseminate în epiteliu, în același mod cu celulele CD8⁺. Izotipul Ig dominant este IgY, în timp ce IgM1 sunt mai puțin frecvente, iar IgA1 sunt cele mai rare (Oshima and Hiramatsu, 2000).

1.2.3 Răspunsul imun al țesutului traheal

La păsări nu a fost descris un țesut limfoid ca parte componentă a traheii. Totuși, în infecțiile experimentale cu *Mycoplasma gallisepticum* s-a demonstrat că mucoasa traheală răspunde intens printr-un infiltrat limfocitar masiv, urmat de limfo-proliferație (Gaunson et al., 2000, 2006). De asemenea, în mucoasa traheală s-au identificat celule CD8⁺ grupate sau sub forma unor structuri foliculare, în timp ce celulele CD4⁺ sunt răspândite la întâmplare. Leziunile caracteristice infecției cu *Mycoplasma gallisepticum* constau în prezența celulelor B proliferative (Gaunson et al., 2006).

1.2.4 Țesutul limfoid asociat bronhiilor

Țesutul pulmonar aviar prezintă atât structuri limfoide foarte bine organizate, cât și țesut limfoid difuz și celule mieloide. Bienenstock și colaboratorii (Bienenstock et al., 1973), comparând sistemul imun pulmonar aviar cu cel de la mamifere, descrie prezența unor noduli limfoizi la nivelul bronhiilor primare, asemănătoare cu plăcile Peyer, fiind astfel denumite țesuturi limfoide asociate bronhiilor. Aceste structuri se dezvoltă la joncțiunea dintre bronhia primară și bronhia secundară caudală, dar și la deschiderea sacilor aeriени (Fagerland and Arp, 1993; van Alstine and Arp, 1988; Myers and Arp, 1987). La găini, aceste structuri sunt absente la nivelul bronhiei secundare craniene, însă la curcani sunt întâlnite în mod frecvent în partea craniană a bronhiei primare (Fagerland and Arp, 1990). Acest țesut limfoid este întâlnit la curcanii mai mari de 6 săptămâni, înconjoară întreaga deschidere a bronhiei secundare și prezintă zone distincte pentru celulele B și T (Jeurissen et al, 1994; Fagerland and Arp, 1990).

Țesutul limfoid matur este acoperit de un strat distinct de celule epiteliale ciliate și neciliate, care găzduiește numeroase limfocite (Fagerland and Arp, 1993; Bienenstock and Befus, 1984).

La puii de 6-8 săptămâni au fost identificați foliculi cu celule B mari, reprezentare de IgM1 în primul rând, dar și de celule IgY1 și IgA1 B, într-o proporție

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

mult mai redusă (Fagerland and Arp, 1993). La curcani, majoritatea nodurilor limfoizi bronhici conțin un centru germinativ, acoperit de un strat de celule CD4⁺ T. În schimb, celulele CD8⁺ T sunt răspândite difuz.

Se consideră că dezvoltarea țesutului limfoid bronhic este influențat de vârstă și de diferiți factori de mediu (Jeurissen et al, 1994). La puii de curcă cu vârsta de o zi, studiile au arătat prezența limfocitelor T în zonele respective, dar nu și a limfocitelor B, care s-au evidențiat după a doua săptămână de viață (Jeurissen et al, 1994). În cea mai mare parte, nu este cunoscut modul în care factorii de mediu ar influența dezvoltarea țesutului limfoid bronhic.

1.2.5 Sistemul imun din zona schimburilor de gaze

Până la ora actuală, informațiile cu privire la structura și funcționalitatea relevantă a sistemului imun din parenchimul pulmonar sunt insuficiente (Reese et al., 2006). Prin studii de biologie moleculară s-a pus în evidență prezența leucocitelor cu distribuție difuză în țesutul interstițial pulmonar (Jeurissen et al, 1989). Majoritatea celulelor identificate au fost clasificate ca aparținând liniei monocite/macrofage și liniei celulare dendritice. Astfel se consideră că parenchimul pulmonar este echipat cu fagocite rezistente, cu celule prezentatoare de antigen, care la rândul lor se găsesc în țesutul interstițial și în pereții parabronhiolari la cel puțin cinci zile după ecloziune. Pe lângă aceste celule, limfocitele sunt și ele larg răspândite în pulmon. Celulele ce exprimă IgM apar după vârsta de o săptămână, în timp ce celulele IgA1 și IgY1 încă nu sunt prezente. În stadiile de dezvoltare mai târzii sunt observate frecvent celule chB61 și celule CD3⁺ T. Majoritatea celulelor T fac parte din fenotipul clasic limfocitar citotoxic ce exprimă moleculele CD8⁺ și αβ TCR; celulele CD4⁺ și γδ T sunt rar observabile (Jeurissen et al, 1994). Cu privire la funcționalitatea acestui sistem, există câteva studii care au evidențiat reactivitatea la stimularea antigenică. Astfel, particulele cu un diametru mai mic de 0.1 μm ajung în țesutul pulmonar profund unde sunt preluate de celulele epiteliale ale atriului și infundibulului și de macrofagele interstițiale (Stearns et al., 1987).

1.2.6 Sistemul fagocitar al tractusului respirator

În cazul alveolelor pulmonare de la mamifere, macrofagele se găsesc atât în parenchim, cât și în epiteliul care căptușește pereții alveolelor ca o populație de celule esențiale, fiind absente totuși la suprafața capilarelor aeriene. Acestea asigură prima linie de apărare la nivelul barierei de schimb gaze-sânge (Maina, 2002; Brain, 1985; Bowden, 1987; Maina and Cowley, 1998). Țesutul conjunctiv din epiteliul peretelui atriului și din septul intraatrial, este bogat în macrofage, ceea ce denotă că aceste celule cu rol fagocitar sunt localizate strategic la originea zonei schimbului de gaze tocmai pentru a purifica aerul cu particule inhalat înainte de a ajunge la capilarele aeriene fine și vulnerabile (Reese et al., 2006, Maina and Cowley, 1998; Klika et al., 1996). Pe suprafața sacilor aerieni sunt prezente numeroase leucocite. Granulocitele constituie majoritatea acestei populații de celule, urmate de macrofage, în timp ce

limfocitele sunt rare (Crespo et al., 1998). La fel ca și în cazul parenchimului pulmonar, fagocitele mononucleare pot fi observate în țesutul conjunctiv al sacilor aerieni (Klika et al., 1996). Acest mod de răspândire al macrofagelor în pulmonii păsărilor sugerează că, chiar și în condiții neinflamatorii, fagocitele pot migra din țesutul conjunctiv spre suprafața zonei schimbului de gaze (Toth and Siegel, 1986; Ficken et al., 1986). În condițiile unei inflamații, heterofilele și macrofagele sunt atrase rapid la suprafața epiteliului respirator.

1.2.7 Neutralizarea particulelor în tractusul respirator

În situația producției avicole convenționale, păsările sunt expuse la încărcături masive de particule aerosolizate. Îndepărtarea acestor particule se desfășoară în toate segmentele aparatului respirator; particulele mai mari sunt îndepărtate în aparatul respirator anterior, în timp ce particulele cu diametru redus ajung până în componentele inferioare ale aparatului posterior. Pentru prevenirea destrucțiilor tisulare și a controlului infecțiilor, organismul și-a dezvoltat câteva mecanisme independente și complementare. Locul de depozitare a particulelor inhalate depinde de mărimea acestora. Particulele mari cu diametrul cuprins între 3.7-7.0 μm sunt captate și îndepărtate în cavitățile nazale și în trahee. Particulele mici, sub 1.1 μm în diametru sunt transportate în pulmoni și în sacii aerieni cranieni, iar cele cu diametru mai mic de 0.1 μm pot străbate pulmonul și sunt depozitate în sacii aerieni caudali (Hayter and Besch, 1974). Mecanismele de curățare de la nivelul aparatului respirator superior se bazează pe blocarea particulelor în mucus, pe expectorație sau pe înghițirea materialului blocat. La suprafața traheei, a bronhiilor primare și a regiunii proximale ale bronhiilor secundare se găsește un epiteliu ciliat, în timp ce în sacii aerieni, celulele ciliate sunt rare (McLelland, 1989; Crespo et al., 1998; McLelland and MacFarlane, 1986). Așadar, particulele care trec de mucoasa ciliată vor fi îndepărtate prin mecanisme celulare.

Intratisular, fagocitele sub-epiteliale, împreună cu macrofagele interstițiale, celulele dendritice și cu populația slab diferențiată de macrofage intravasculare rezidente la nivel pulmonar neutralizează particulele străine care străbat bariera epitelială (Jeurissen et al, 1994, de Geus et al., 2012; Maina and Cowley, 1998; Lorz and Lopez, 1997; Scheuermann et al., 1997).

Modul de neutralizare a particulelor inhalate care ajung până la nivelul sacilor aerieni este și mai puțin cunoscut. Deși în partea proximală a sacilor aerieni s-a descris existența unui epiteliu ciliat, transportul particulelor înapoi în bronhii nu s-a demonstrat experimental (Crespo et al., 1998). Prin urmare, celulele cu rol fagocitar de origine mieloidă sunt responsabile în primul rând de neutralizarea particulelor, chiar dacă acest proces este în mod semnificativ mai lent comparativ cu cel din țesutul pulmonar (Ficken et al., 1986; Mensah and Brain, 1982).

1.2.8 Sistemul IgA secretorie din tractusul respirator

Protecția mucoasei căilor respiratorii anterioare contra antigenelor specifice este realizată în principal prin intervenția sistemului imun umoral, prin producerea și secreția de imunoglobuline A și M polimerice (Brandtzaeg et al., 1997). Aceste imunoglobuline sunt transportate prin celulele epiteliale prin intermediul unui receptor proteic exprimat baso-lateral, și anume receptorul poli-Ig (Snoeck et al., 2006). Ig secretorie își exercită funcția de neutralizare prin limitarea absorbției de antigene solubile și prin blocarea adeziunii și invaziei epiteliului de către microorganisme (Snoeck et al., 2006; Avakian and Ley, 1993).

Imunoglobulinele secretate în aparatul respirator sunt produse de celule derivate din Bursa lui Fabricius, fiind reprezentate de IgA în principal, deși IgY și IgM sunt frecvent observate (Russel, 1993). Rolul protectiv al IgA secretorii a fost investigat în numeroase infecții și vaccinări experimentale cu agenți patogeni respiratorii de interes economic. Astfel, vaccinarea intranasală sau oculo-conjunctivală cu virusul bolii de Newcastle induce formarea de anticorpi IgA specifici care pot fi identificați în lacrimi și trahee, dar și în lavajul pulmonar (Survashe and Aitken, 1977; Ganapathy et al., 2005; Rauw et al., 2009). În timp ce IgA este cel mai probabil produsă local și secretată drept anticorp polimeric, anticorpii IgY ar putea să fie secretați local, fie migrați din ser, așa cum sugerează rezultatele unor studii (Toro et al., 1993; Suresh and Arp, 1995).

1.2.9 Reglarea sistemului imun-molecule și celule implicate în răspunsul imun înăscut

Păsările prezintă un repertoriu de țesut limfoid, celule și molecule diferite de ale mamiferelor, deși unele componente sunt considerate identice.

La păsări lipsește IgE, acestea prezintă doar IgM, IgY (funcțional identică cu IgG de la mamifere) și IgA. Eotaxinele (chemokine) și receptorii eotaxinelor, responsabili de controlul migrației eozinofilelor la mamifere, în cazul păsărilor lipsesc din genom. Alte tipuri majore de celule imune care lipsesc la păsări sunt neutrofilele. În cazul mamiferelor, aceste celule sunt efectori esențiali în inducerea răspunsului imun specific. În cazul păsărilor, aceste celule sunt înlocuite de heterofile (Scanes, 2015).

Agenții patogeni și-au dezvoltat diferite mecanisme de sustragere imună în vederea manipulării răspunsului imun al gazdei și de a câștiga suficient timp pentru propria sa replicare. Din acest punct de vedere, virusurile sunt cele mai abile. Pentru a alerta sistemul imun a gazdei de o posibilă infecție virală, peptidele virale sunt prezentate celulelor T CD8⁺ în prezența moleculelor complexului major de histocompatibilitate (CMH) clasa I. Majoritatea virusurilor utilizează mecanisme de inhibare a exprimării CMH clasa I în celulele infectate în ideea reducerii declanșării activării celulelor T CD8⁺. În schimb, celulele gazdă prezintă mecanisme de supraveghere a nivelului de exprimare a CMH clasa I pe suprafața propriilor celule, și nune prin intervenția celulelor natural killer (NK), care vor fi atrase de celulele gazdă

ce exprimă pe suprafață un CMH clasa I redus. Există însă unele virusuri care și-au elaborat mecanisme care mimează expresia CMH clasa I, fie prin codificarea propriilor clone de CMH clasa I, reglând selectiv expresia CMH clasa I al gazdei și interferând cu semnalul celulelor NK, fie prin modularea căii de acțiune a citokinelor, care vor influența celulele NK (Orange et al., 2002). Mecanismul prin care celulele NK acționează constă în recunoașterea receptorilor de pe suprafața celulelor NK de către CMH clasa I și prin furnizarea unor semnale activatoare sau inhibitoare celulelor NK. Pur și simplu, lipsa identificării CMH clasa I pe celula gazdă este urmată de absența unui semnal inhibitor sau de suprimare transmis către celulele NK, ceea ce duce la omorârea celei respective de către celulele NK.

Complexul major de histocompatibilitate. Răspunsul imun adaptativ este declanșat doar atunci când agenții patogeni sunt prezentați celulelor T asociate moleculelor denumite complex major de histocompatibilitate. Pentru prezentarea antigenelor, cele mai relevante sunt genele clasei I, care vor prezenta antigene de la patogeni intracelulari prin intermediul celulelor T $CD8^+$, și ale clasei II, care vor prezenta antigene de la patogeni extracelulari prin intermediul celulelor T $CD4^+$. Proteinele CMH clasa I sunt exprimate de majoritatea tipurilor de celule, în schimb cele din CMH clasa II sunt exprimate de celulele prezentatoare de antigen (CPA), așa cum sunt celulele dendritice, macrofagele și celulele B (Kaufman et al., 1999). De asemenea, CPA pot emite și alte semnale la fel de importante pentru activarea celulelor T, așa numitele semnale secundare sau co-stimulatoare (Arstila et al., 1994). Activarea celulelor T este urmată de proliferarea celulelor T activate și de diferențierea lor în subpopulații de celule efectuate diverse: celule T helper ($CD4^+$), celule T supresoare, celule T citotoxice ($CD8^+$) sau celule cu memorie. Funcția efectuată de celulele T helper implică în primul rând sintetizarea de citokine (molecule solubile secretate în spațiile extracelulare) și exprimarea de molecule atașate de suprafața membranei celulare. În schimb, celulele T citotoxice sunt specializate în eliminarea antigenelor celulare, cum sunt cele care au traversat peretele celular prin endocitoză (antigene exogene: bacterii fagocitate) sau care au fost sintetizate în interiorul celei așa cum sunt proteinele virale sau proteinele rezultate în urma transformării neoplazice a celei (antigene endogene) (Erf, 2004). Mai există și alte subpopulații de celule T (celulele T $\gamma\delta$), însă semnificația lor fiziologică este încă speculată.

Citokinele și chemokinele. Aceste două tipuri de molecule sunt elemente care controlează precizia răspunsului imun în cazul infecțiilor sau a vaccinărilor.

Chemokinele sunt mesageri chimici de dimensiuni mici care sunt responsabili de controlul traficului celulelor imune în timpul răspunsului inflamator din infecții, dar și de menținerea homeostaziei. Aceste molecule sunt clasificate în funcție de structură în două familii principale (CC și CXC) și în două familii mici (XC și CX3C) (Kaiser et al., 2005).

Factorii de necroză tumorală. Aceste molecule îndeplinesc un rol crucial în majoritatea etapelor răspunsurilor imune, cu ar fi în inducerea răspunsului imun nespecific, inflamații, apoptoză și proliferare celulară.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Interleukinele-1. O perioadă îndelungată de ani, s-au cunoscut doar trei membri în familia Interleukina-1 (IL-1): IL-1 α , IL-1 β și IL-1 receptor antagonist (IL-1RN), un al patru-lea membru, IL-18, fiind descoperită mult mai târziu.. IL-1 α și IL-1 β sunt cytokine pro-inflamatorii, în timp ce IL-1RN acționează printr-un mecanism de feedback negativ în stoparea răspunsului inflamator (Weining et al., 1998, Schneider et al., 2000).

CAPITOLUL 2

PRINCIPALELE BOLI INFECȚIOASE CU TROPISM RESPIRATOR ÎNTÂLNITE LA CURCI CRESCUTE ÎN SISTEM INTENSIV

CHAPTER 2

THE MAIN INFECTIOUS DISEASES WITH RESPIRATORY TROPISM IN TURKEYS INTENSIVELY REARED

Infecții virale

La ora actuală, din cauza sistemelor de management aplicate în creșterea păsărilor, bolile respiratorii sunt frecvent întâlnite, în special acolo unde există o densitate crescută de păsări și deci posibilitatea răspândirii acestora cu ușurință. Dintre cele mai răspândite boli virale întâlnite în creșterea curcilor se pot menționa cele produse de virusurile din familia Paramyxoviridae.

Familia Paramyxoviridae face parte din ordinul Mononegavirales, care cuprinde virusuri ARN, monocatenare, de sens negativ și capsidă cu simetrie helicoidală. Această familie cuprinde numeroase virusuri patogene importante pentru sănătatea umană și animală, fiind împărțită în două subfamiliile: Paramyxovirinae și Pneumovirinae (ICVT, 2012). Subfamilia Paramyxovirinae cuprinde la ora actuală opt genuri, dintre care cele mai importante sunt: Rubulavirus, Respirivirus, Morbilivirus, Henipavirus și Avulavirus (ICVT, 2012). Subfamilia Pneumovirinae cuprinde două genuri: genul Pneumovirus ce cuprinde pneumovirusurile mamiferelor și Metapneumovirus ce cuprinde atât metapneumovirusurile umane cât și cele aviare (ICTV, 2012). Infecțiile cu metapneumovirusurile aviare continuă să fie emergente mai ales prin cele patru subtipuri descrise până în prezent A-D și recunoscute ca responsabile de semnele clinice specifice de la curci și pui. Din punct de vedere genetic, subtipul C este înrudit cu metapneumovirusul uman caracterizat recent (van den Hoogen et al., 2001). Se consideră că rezervorul natural al metapneumovirusului aviar este reprezentat de păsările sălbatice, însă este neclar în ce mod păsările sălbatice joacă un rol în apariția focarelor de boală la curci și găini (Turpin et al., 2008).

2.1 Rinotraheita infecțioasă a curcilor

Boala clinică rezultă în urma infecției cu metapneumovirusul aviar (MPVA) a puilor de găină sau curcă, boala purtând diferite denumiri cum ar fi rinotraheita curcilor (TRT), infecția cu pneumovirus a curcilor, sindromul capului umflat sau rinotraheita aviară. Însă, semnele clinice și lezionale nu sunt specifice infecției cu

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

MPVA , de aceea boala poate fi confundată cu alte mono- sau co-infecții produse de agenți patogeni cu tropism respirator. Prin urmare, este universal acceptat faptul că infecțiile cunoscute drept sindromul capului umflat (SHS) sau TRT au drept etiologie MPVA. Cele mai severe cazuri de boală rezultă în urma infecțiilor duale sau secundare cu alți agenți patogeni, iar în cazul SHS, simptomul caracteristic de cap umflat apare ca urmare a co-infecției cu bacterii secundare, de obicei *Escherichia coli*, *Mycoplasma gallisepticum* sau *Ornithobacterium rhinotracheale*.

Infecțiile păsărilor cu MPVA sunt asociate cu pierderi economice importante, mai ales în cazul efectivelor de curci. Chiar și în cazul țărilor unde vaccinarea contra MPVA a devenit o rutină, boala este încă considerată una din cele mai păguboase boli respiratorii (Lister, 1998).

2.1.1 Etiologie

Metapneumovirusul aviar, denumit anterior pneumovirusul aviar sau virusul rinotraheitei aviare, este responsabil de apariția unei infecții acute foarte contagioase a tractusului respirator superior la puii de găină și la curci. În cazul curcilor, virusul este responsabil de apariția unei boli denumită rinotraheita curcilor (TRT). Agentul etiologic este reprezentat de un virus ARN, ce deține anvelopă, este mono catenar, de sens negativ, cu aproximativ 14 kilobaze conținute în nucleocapsida cu simetrie helicoidală (Cajal, 1990; Carp-Cărare, 2001; Gough et al, 2001).

Virusul posedă unele caracteristici întâlnite la pneumovirusuri, însă diferă de pneumovirusurile mamiferelor în special la nivel molecular, iar recent virusul a fost clasificat ca tulpina tip a unui gen nou, și anume genul Metapneumovirus, familia Paramyxoviridae (Pedersen et al., 2004). Metapneumovirusurile au fost izolate și de la oameni, fiind asociate în principal cu infecții ale tractusului respirator la copii (Naylor and Jones, 1993; Toquin et al., 2003; Van Den Hoogen et al., 2001).

Organizarea genomului MPV aviare se aseamănă foarte mult cu cea a virusului sincițial bovin și cu a virusurilor sincițiale respiratorii umane, însă există și unele diferențe (Collins et al., 1996; Ling et al., 1992; Yu et al., 1992). Genomul pneumovirusurilor mamiferelor conține două gene nestructurale (NS) urmate de alte opt gene: nucleocapsida (N), fosfoproteina (P), matricea (M), proteina hidrofobică mică (SH), glicoproteina de suprafață (G), proteina de fuziune (F), matricea secundară (M2) și polimeraza ARN dependentă (L), dispuse în această ordine 3'NS1-NS2-N-P-M-SH-G-F-M2-L5'.

Metapneumovirusul aviar nu conține proteinele nestructurale NS1 și NS2, genomul conține 13,3 kilobaze, iar ordinea genelor (3'-N-P-M-F-M2-SH-G-L-5') diferă față de cea de la pneumovirusurile mamiferelor (3'-NS1-NS2-N-P-M-SH-G-F-M2-L-5') (Tanaka et al., 1995). Pe baza analizei secvențelor nucleotidice, metapneumovirusul aviar a fost clasificat în 4 subtipuri: A, B, C și D. De asemenea, pe baza testelor cu anticorpi monoclonali și a testelor de seroneutralizare s-a observat o reactivitate încrucișată limitată între subtipurile identificate (Collins et al., 1993; Cook et al., 1993). În plus, analiza secvențelor MPV aviar tip A a arătat că MPV aviare dețin

aproximativ 40% secvențe de aminoacizi identice cu celelalte pneumovirusurile aviare (Njenga et al., 2003). Se presupune existența și a altor subtipuri noi, însă până în prezent nu au fost identificate și caracterizate.

Infecția cu metapneumovirusul aviar poate fi întâlnită la toate categoriile de vârstă și se manifestă clinic prin strănut, raluri, scuturări din cap, jetaj, conjunctivită cu secreții spumoase, tumefacția sinusurilor infraorbitale și edeme submandibulare (Pringle, 1998). Infecțiile secundare complică de cele mai multe ori semnele clinice. Într-o infecție necomplicată, recuperarea păsărilor se face într-un timp scurt, acestea apărând normale după aproximativ 14 zile. Atunci când condițiile de mediu sunt deficitare sau apar infecții secundare bacteriene, boala se prelungește prin apariția aerosaculitei, pericarditei, pneumoniei și perihepatitiei, astfel înregistrându-se și un procent ridicat de morbiditate și mortalitate (Cook et al., 1991; Mekkes and De Wit, 1999). Dintre infecțiile secundare bacteriene care s-au dovedit că exacerbează și prelungesc evoluția clinică a bolii se pot menționa infecțiile cu *Bordetella avium*, *Pasteurella*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Chlamydophila* și *Ornithobacterium rhinotracheale* (Alkhalaf et al., 2002; Cook et al., 1991; Jirjis et al., 2004; Senne et al., 1997; Van Loock et al., 2006). În unele situații, morbiditatea poate ajunge până la 100%, în timp ce mortalitatea poate varia într 0.5% la curcile adulte și până în 80% la puii de curcă (Buys et al., 1989; Van De Zande et al., 1999; Gough et al., 2001).

Pentru transmiterea virusului, rezultatele studiilor experimentale au arătat că este necesar un contact direct între păsări (Alkhalaf et al., 2002; Cook et al., 1991). În condițiile creșterii intensive, infecțiile aerogene s-au dovedit a fi limitate doar la nivelul aparatului respirator. Infecțiile experimentale cu metapneumovirusul aviar efectuate pe pui de curcă în vârstă de 2 săptămâni au condus la detecția virusului la nivel respirator doar timp de câteva zile (Băyon-Auboyer et al., 2000). Totuși, în cazul inoculării metapneumovirusului împreună cu *Bordetella avium*, s-a observat detecția virusului și la 7 zile post-inoculare (Collins and Gough, 1988; Cook et al., 1993; Naylor and Jones, 1993). Nu există dovezi că în cazul infecției cu metapneumovirusul aviar ar rezulta o infecție latentă și nici că ar exista statusul de purtător. Deși s-au raportat cazuri de infecție la puii de curcă nou eclozionați (Shin et al., 2002), totuși nu a fost demonstrată transmiterea verticală a virusului.

La tineret, replicarea virusului este limitată la aparatul respirator anterior cu o perioadă scurtă de viremie. Replicarea atât a tulpinilor atenuate cât și a celor virulente durează aproximativ 10 zile (Cook et al., 1991; Van de Zande et al., 1999). S-a observat și o replicare limitată la nivelul traheei și pulmonilor, însă, în infecțiile naturale virusul nu se replică în alte organe (Cook and Cavanagh, 2002). Semnele clinice constau într-o rinită catarală cu un exsudat muco-purulent, leziuni ale stratului epitelial, cu infiltrarea masivă a submucoasei cu mononuclee, în special după 3-4 zile post-infecție. Leziuni tranzitorii pot fi observate și în trahee, iar la nivelul conjunctivei sau al altor organe leziunile pot lipsi sau pot fi de mică intensitate (Giraud et al., 1986; Majo et al., 1995). În cazul curcilor ouătoare, infecția respiratorie este mai puțin severă; totuși, se poate observa o scădere a procentului de ouat până la 70% (Stuart,

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

1989), iar calitatea ouălor să fie scăzută în perioada de recuperare care poate dura până la 3 săptămâni. În cazul infecțiilor experimentale realizate pe curci ouătoare, s-a demonstrat prezența replicării virale atât la nivelul aparatului respirator cât și la nivelul celui genital cel puțin 9 zile post-infecție (Jones et al., 1988).

Referitor la prezența virusului, există dovezi privind prezența virusului și la alte specii de păsări cum ar fi la fazani, struți, palmipede și diverse păsări de apă (Bennett et al., 2004, Gough et al., 2001; Lee et al., 2007, Shin et al., 2002), dar nu există dovezi privind existența semnelor clinice.

Metapneumovirusurile aviare sunt sensibile la acțiunea solvenților lipidici, sunt stabili la pH cuprins între 3.0 și 9.0, fiind inactivați la 56⁰ C în 30 minute (Collins et al., 1996). Virusul rămâne viabil după ce a fost menținut la temperatura camerei timp de 7 zile.

2.1.2 Impact economic și sanitar

Infecțiile păsărilor cu MPVA sunt asociate cu pierderi economice importante, mai ales în cazul efectivelor de curci. Chiar și în cazul țărilor unde vaccinarea contra MPVA a devenit o rutină, boala este încă considerată una din cele mai păguboase afecțiuni respiratorii (Lister, 1998).

La om este întâlnită o infecție a tractusului respirator superior produsă de un metapneumovirus înrudit generic cu cel aviar (van den Hoogen et al., 2001). În urma infecțiilor experimentale efectuate pe curci, s-a demonstrat că cele patru genotipuri de MPTV umane determină la această specie o infecție tranzitorie la nivelul aparatului respirator, evidențiată prin examene virusologice, histologice, dar și clinice (Velayudhan et al., 2006). Deși nu există dovezi privind existența unor infecții cu MPV aviare la om, totuși un studiu serologic efectuat pe oameni adulți a sugerat că indivizii expuși contactului cu unele păsări, așa cum sunt curcile, pot suferi infecții cu MPV aviare (Kayali et al., 2011).

2.1.3 Istoric și epidemiologie

Metapneumovirusul aviar a fost descris la curci pentru prima dată în Africa de Sud la sfârșitul anilor 1970, unde a produs pagube economice importante în creșterea intensivă a curcilor (Buys et al., 1980). Câțiva ani mai târziu, această boală a fost raportată și în Europa, iar agentul etiologic a fost izolat în același timp atât în Franța (Giraud et al., 1986) cât și în Marea Britanie (McDougall and Cook, 1986; Wilding et al., 1986; Wyeth et al., 1987). Agentul izolat a fost caracterizat și clasificat ca un virus aparținând familiei Paramyxoviridae, și încadrat inițial în genul Pneumovirus (Cavanagh and Barrett, 1988). Mai târziu, virusul a fost raportat și în alte țări din Europa Centrală și de Est, Israel, Maroc, Zimbabwe, Taiwan, Japonia, Brazilia, America Centrală și SUA (Jones, 1996; Cook, 2000; Broor and Bharaj, 2007). O afecțiune asemănătoare cu cea de la curci a fost raportată și la pui, observând-se inflamații ale tractusului respirator anterior, cu tumefacția capului la un număr redus de păsări (Alexander, 1993).

Speciile susceptibile la infecția cu MPV aviar sunt reprezentate de curcile de toate vârstele, dar și de găini. Totuși, se pare că cei mai sensibili sunt puii de curcă în vârstă de până la 3 săptămâni. Pe lângă cele două specii receptive în mod natural, în condiții experimentale s-a reușit transmiterea virusului la fazani și bibilici. Porumbeii, găștele și rațele sunt refractare la infecția cu MPV aviar (Gough et al., 1988). Un rol important în transmiterea virusului joacă îl bibilicile domestice și sălbatice, dar și fazanii care pot dezvolta semne clinice. Anticorpi specifici au fost evidențiați la struți din Zimbabwe, dar și la pescăruși din zona Mării Baltice, deși virusul nu a putut fi izolat (Cadman et al., 1994; Heffels-Redmann et al., 1998, Mahy et al., 2008).

Sursele de infecție sunt reprezentate de păsările bolnave care elimină virusul în cantități mari prin secrețiile de la nivelul aparatului respirator. Virusul se transmite pe cale directă, prin contactul păsărilor bolnave cu cele sănătoase; calea de pătrundere în organismul păsărilor este cea respiratorie în principal, dar și digestivă. (Cook, 2000; Perianu, 2012).

2.1.4 Patogeneză

În urma infecțiilor experimentale, perioada de incubație a fost apreciată între 3 și 7 zile. Sunt virusuri cu tropism respirator selectiv pentru celulele tractusului respirator superior de la nivelul corneților nazali, unde produce hiperplazia glandulară și distrugerea epitelială la nivelul sinusurilor, conjunctivei și traheii, unde se și multiplică. Aceste virusuri pătrund foarte rar la nivelul pulmonului și sacilor aerenchi (Murphy et al., 1999).

În ciuda morbidității ridicate și a mortalității crescute, întâlnite doar ocazional la unele tulpini din teren, în cazul tulpinilor izolate în laborator a fost dificil de determinat gradul de patogenitate. Păsările infectate în mod experimental prezintă semne clinice asociate rinotraheitei, însă acestea sunt mai ușoare față de cele observate în infecțiile naturale (van de Zande et al., 1999). În infecțiile experimentale, puii prezintă o infecție respiratorie ușoară, iar mucusul nazal poate fi observat doar după strănutul păsării.

Diferența de patogenitate dintre tulpinile de laborator și cele din teren este asociată cu condițiile de mediu în care trăiesc păsările, dar și cu prezența sau absența unor infecții de asociație. Studiile de laborator au demonstrat că infecțiile concurente cu diferite bacterii cu tropism respirator cum ar fi *E. coli*, *Bordetella avium*, *Mycoplasma gallisepticum*, *Riemerella anatipestifer* și *Ornithobacterium rhinotracheale* sau cu tulpini lentogene de virus NewCastle exacerbează semnele clinice, cresc procentul de morbiditate dar și durata evoluției bolii (Turpin et al., 2008, Garmyn et al., 2009).

Ca urmare a replicării virale la nivelul celulelor epiteliale de la nivel respirator, se produce ciliostază, cu pierderea cililor, permițând atașarea de celulă a agenților patogeni secundari. Unele tulpini de MPV aviare au abilitatea de a produce o imunosupresie tranzitorie, permițând astfel apariția infecțiilor secundare dar și a unor răspunsuri vaccinale reduse (Chary et al., 2002).

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

În mod normal, faza de viremie este de foarte scurtă durată și se manifestă în primele săptămâni de viață, ceea ce explică numeroasele încercări soldate cu eșecuri în izolarea virusului de la păsări cu SHS deoarece la scurt timp virusul dispare. Cunoștințele de patogeneză asupra virusului au ajutat la stabilirea unor măsuri profilactice și a unor programe de vaccinare (Webster and Granoff, 1994).

2.1.5 Tablou clinic

Simptomatologia este predominantă în principal de tulburări de ordin respirator. Specific, la pui și tineret, semnele clinice constau în respirație zgomotoasă, raluri, strănut, scurgeri nazale, conjunctivită, tumefacția sinusurilor infraorbitale și edem submandibular (figura 2.1). Tusea și scuturarea capului sunt frecvent întâlnite, mai ales la păsările adulte. Toate aceste simptome se generalizează într-o perioadă de 5-10 zile (Antohe, 2011).



Fig. 2.1 Semne clinice în rinotraheita curcilor la pui, tineret și la adulți.

Fig. 2.1 Clinical signs in turkey rhinotracheitis: in young and adults

Sursa:

<http://www.poultrymed.com/Poultrymed/Templates/showpage.asp?DBID=1&LANGID=1&TMID=103&FID=1528>

După 2-3 zile de la debutul semnelor clinice, este posibil să apară și un prurit conjunctival, dar și edeme infraorbitale, ceea ce la găini determină așa numitul „Sindrom al capului umflat” (SHS), fapt care indică prezența agenților patogeni secundari (Perianu et al., 2012). Dintre agenții patogeni care pot complica infecția primară se numără *Bordetella avium*, *Pasteurella*-like organisms, *Mycoplasma gallisepticum*, *Chlamydophila* și *Ornithobacterium rhinotracheale* (Alkhalaf et al., 2002; Cook et al., 1991; Jirjis et al., 2004; Senne et al., 1997; Van Looek et al., 2006). Totodată se observă apariția unei scăderi a consumului de furaj, iar după 24-48 ore se observă apariția edemelor faciale și a unei stări de prostrație.

La câteva zile de la apariția semnelor respiratorii, o serie de păsări pot manifesta și simptome neurologice. Astfel, în stadiul incipient, exemplarele țin ochii închiși și gâtul retractat pentru ca, în final, să apară o serie de manifestări complexe, cea mai frecventă fiind rotirea obsesivă a capului.

La păsările ouătoare se poate întâlni scăderea procentului de ouat până la 70%, cu apariția modificărilor calitative ale cojii oului, dar și a peritonitei (Jones et al., 1988). La păsările de reproducție se poate produce prolapsul cloacei din cauza tusei. În cazurile necomplicate, vindecarea păsărilor se produce în 10-14 zile. Mortalitatea variază între 0,4% și peste 50%, în cazul puiilor susceptibili (Moga-Mânzat, 2005).

2.1.6 Tabloul anatomopatologic

Leziuni macroscopice. În cazul infecției experimentale realizate cu tulpina europeană de MPV pe pui de curcă în vârstă de 5 săptămâni s-a constatat prezența unei decilieri masive a traheii după 96 ore de la inoculare (Jones et al., 1986). În cazul infecției prezente la curcile ouătoare, după 1-9 zile post inoculare s-a observat la nivelul corneților nazali prezența unui exsudat mucos, iar la nivelul traheii mucus în exces (Jones et al., 1988). Diferiți autori au raportat existența unor leziuni și la nivelul aparatului reproducător, peritonită vitelină, ouă cu coajă modificată, atrofia ovarului și a oviductului sau albumină și vitelus cu consistență crescută.

Curcile aflate în perioada ouatului pot prezenta prolapsul oviductului din cauza strănutului violent. În cazul focarelor naturale de boală, exacerbate de prezența agenților patogeni secundari, au fost descrise și o serie de leziuni de aerosaculită, pericardită, pneumonie sau perihepatită (Collins and Gough, 1988; Jones, 1996). La curci, cele mai relevante leziuni macroscopice se pot rezuma la cazuri de rinite purulente sau seroase și traheite. De asemenea, pot fi întâlnite și sinuzite purulente sau cazeoase, conjunctivite (Jubb et al., 2007).

Leziuni microscopice. Examinarea histologică a corneților nazali proveniți de la păsări inoculate experimental cu MPV aviari a relevat prezența în primele două zile post inoculare a unei activități crescute glandulare, zone de deciliere, hiperemie, cu o infiltrație moderată a submucoasei cu mononucleate. Între zilele trei și șase se observă un vârf al distrucției epiteliale, infiltrație masivă cu mononucleate a submucoasei. La nivelul traheii, corneților nazali sau a bronhiei primare pot fi observate leziuni tranzitorii (Jubb et al., 2007; Swyne and Glisson, 2013)

2.1.7 Diagnostic

Confirmarea diagnosticului de rinotraheită infecțioasă se realizează prin examene virusologice și serologice. Virusul a fost izolat cu succes pe ouă embrionate, culturi celulare embrionare de pui de găină sau curcă sau pe culturi celulare de origine traheală, aceasta fiind de astfel și metoda de izolare de rutină. Virusul poate fi detectat și cu ajutorul tehnicilor de biologie moleculară cum ar fi RT-PCR, care este o metodă mai rapidă și mai sensibilă comparativ cu celelalte metode convenționale de izolare; în plus, prin această metodă se poate identifica cu exactitate subtipul viral. Deși virusul a

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

putut fi izolat din trahee, pulmoni sau alte organe provenite de la pui de curcă infectați, cea mai bună sursă de virus o constituie secreția nazală și oculară, tampoanele recoltate de la nivelul coanelor sau mucoasa sinusală și nazală (Aung et al., 2008). De la cazurile severe de boală, virusul se izolează rar, mai ales din cauza suprapunerii infecțiilor secundare. Pe linia celulară VERO, după câteva pasaje oarbe, virusul produce efect citopatic cu formarea de sinciții în aproximativ 7 zile (Goyal et al., 2000).

În Europa, acolo unde sunt raportate toate cele patru subtipuri de MPV aviar, există kituri comerciale de identificare cantitativă a virusului prin RT-PCR. Prin această metodă cu ajutorul primerilor capabili să amplifice regiunea N se pot detecta subtipul A, B, C și D; în plus, subtipurile virale pot fi caracterizate și cu ajutorul secvențierii sau prin analiza lungimii fragmentelor de restricție. Totuși, prin această metodă nu se abține virusul viu, de aceea în vederea studierii patogenității sau preparării de vaccinuri sunt necesare alte metode de izolare (Njenga et al., 2003).

Detectarea virusului sau a anticorpilor specifici se poate realiza prin folosirea testului de imunofluorescență, imunohistochimie, a seroneutralizării (SN) și a testului imunoenzimatic-ELISA (van Boheemen et al., 2012). Pentru identificarea anticorpilor specifici există o varietate de kituri comerciale sau preparate în laborator (Gough and Pedersen, 2008).

Diagnostic diferențial. Paramixovirusurile, în special virusul bolii de Newcastle și PMV-3, virusul bronșitei infecțioase sau virusul gripei aviare determină semne clinice respiratorii și scăderea ouatului, asemănătoare cu cele din infecția cu MPV aviar. O serie de bacterii, inclusiv specii de mycoplasma pot determina semne clinice foarte asemănătoare cu cele din infecția cu MPV aviar (Lister, 1998). Aceste organisme acționează de obicei ca agenți patogeni secundari oportuniști, cauzând dificultăți în stabilirea etiologiei primare. Diferențierea se va face doar pe baza izolării și identificării MPV aviar de la păsările afectate (Sharma and Adlakha, 2009).

2.1.8 Măsuri de profilaxie și combatere

Prevenirea bolii se bazează atât pe aplicarea măsurilor generale, cât și a celor specifice.

Măsurile generale care conduc la prevenirea bolii sunt cele legate în special de creșterea intensivă a curcilor. O atenție deosebită trebuie acordată metodelor de îmbunătățire a tehnologiilor de exploatare, a condițiilor de microclimat, asigurării unei ventilații corespunzătoare pentru a evita acumularea de amoniac, menținerii unei temperaturi medii ușor scăzute, mai ales în cazul unei ventilații defectuoase și asigurării unor condiții de igienă și hrănire corespunzătoare (Vasiu, 2003).

Pentru prevenirea bolii la curci există două tipuri de vaccinuri comerciale: vaccinuri vii atenuate și vaccinuri inactivate (Cook, 2000). La ora actuală se prepară vaccinuri vii recombinante bazate pe un virus variolic aviar- vector capabil să exprime proteina F, vaccinuri ADN care codifică diverse proteine ale MPV sau chiar vaccinuri

bazate pe inginerie genetică preparate din MPV atenuat și obținut prin revers transcripție (Stuart, 1989; Tanaka et al., 1995; Toquin et al., 1999).

Vaccinurile vii sunt preparate din tulpini virale atenuate obținute prin pasaje repetate pe ouă embrionate, linii celulare primare traheale sau pe culturi celulare (diverse linii celulare standardizate sau pe culturi celulare de fibroblaste de embrioni de găină) sau prin pasaje alternative folosind diferite combinații între metodele enumerate anterior. Vaccinurile vii atenuate comerciale sunt derivate din tulpini europene izolate din subtipul A sau B. Aceste vaccinuri sunt destinate utilizării în cazul puilor și a tineretului de curcă în vederea inducerii protecției anti-virale. În plus, vaccinurile vii atenuate se pot folosi și la efectivele de reproducție pentru inducerea unui răspuns imun primar chiar înainte de vaccinarea cu vaccinuri inactivate în preajma debutului ouatului. Aceste vaccinuri se aplică prin aerosolizare, în apa de băut sau prin administrare oculo-nazală la vârsta de o zi sau până la vârsta de șapte zile. Un prim rapel se efectuează în jurul vârstei de șase săptămâni, atunci când se aplică doar două imunizări, sau unul în jurul vârstei de trei săptămâni urmat de un rapel la șase săptămâni (Toquin et al, 2003).

Utilizarea vaccinurilor inactivate este larg răspândită la păsările de reproducție care au fost anterior vaccinate cu vaccinuri vii atenuate sau care au fost expuse contactului cu virusul circulant în timpul creșterii, deoarece aceste vaccinuri sunt capabile să producă un titru crescut de anticorpi protectori, la un nivel uniform și de durată. Administrarea acestui vaccin se realizează după 4-6 săptămâni de la administrarea vaccinului viu atenuat, până la vârsta de 28 de săptămâni, evitând însă vaccinarea în ultimele patru săptămâni înainte de începutul ouatului. Se vaccinează doar păsările sănătoase. Utilizat sub forma acestei scheme, vaccinul inactivat va oferi protecție păsărilor de reproducție în sezonul de ouat (Van de Zande et al., 2000). Nivelul exact, dar și durata imunității conferite de vaccinurile inactivate va depinde în principal de concentrația de antigen prezentă în doza vaccinală. De aceea, obiectivul producătorului va consta în obținerea unei concentrații antigenice cât mai ridicate, rezultând astfel un vaccin eficient.

În scopul prevenirii infecțiilor bacteriene secundare, păsările bolnave se supun tratamentului cu antibiotice cu spectrul larg. Medicația antibiotică este recomandată în cazul păsărilor care prezintă și o complicație de natură bacteriană. Medicația se poate administra în apa de băut sau în hrană. Tratamentul cu antibiotice cu efect pe termen lung, administrat intramuscular, are efecte benefice, mai ales în cazul păsărilor care prezintă precoce simptome neurologice. Se indică eliminarea păsărilor contaminate din cadrul efectivului și asigurarea unei ventilații corespunzătoare, pentru a spori confortul păsărilor (Velescu, 2004).

Infecții bacteriene

Bolile aparatului respirator reprezintă cele mai semnificative infecții din totalul celor cu incidență crescută la păsările crescute în sistem intensiv. În marea majoritate a cazurilor, bolile respiratorii întâlnite la păsări sunt o componentă a unei

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

boli multisistemice sau chiar boala predominantă, cu implicarea mai mult sau mai puțin a altor organe. De cele mai multe ori, infecțiile respiratorii sunt însoțite de pierderi economice importante cauzate în primul rând de mortalitatea ridicată, creșterea costurilor cu medicația, creșterea confiscărilor la sacrificare, scăderea procentului de ouat, reducerea calității cojii ouălor, dar și reducerea procentului de ecloziune (van Empel and Hafez, 1999). Bolile respiratorii sunt inițiate în general de diferiți agenți patogeni virali, bacterieni sau fungici, fie ca agenți primari, fie în sinergism cu alte microorganisme sau influențați de factori ne-infecțioși așa cum sunt condițiile de microclimat (ventilație necorespunzătoare, igienă precară, supraaglomerare, nivel ridicat de amoniu în aer) sau alte probleme asociate unui management defectuos (van Empel and Hafez, 1999). Factorii de mediu pot agrava efectul acestor agenți patogeni, rezultând semne clinice evidente și leziuni cu gravitate diferită (Glisson, 1998).

2.1 Infecția cu *Ornithobacterium* rinotracheale

Infecția cu *Ornithobacterium* rinotracheale reprezintă o boală infecțioasă a păsărilor manifestată prin tulburări respiratorii, mortalitate și întârzieri în creștere. Durata bolii, severitatea semnelor clinice și procentul de mortalitate sunt foarte variate și depind în principal de factorii de mediu cum ar fi managementul defectuos, ventilație inadecvată, supraaglomerație, așternut de proastă calitate împreună cu o igienă deficitară. Boala prezintă importanță economică prin pierderile produse în urma mortalității, confiscărilor de abator, scăderea producției de ouă și a întârzierilor în creștere (Swayne and Glisson, 2013).

2.2.1 Istoric

Infecția cu *Ornithobacterium* rinotracheale (ORT) constituie una din infecțiile respiratorii frecvent întâlnite în marile aglomerații de păsări.

Prima descriere bacteriei a fost făcută în 1981 în nordul Germaniei într-un efectiv de pui de curcă cu vârsta de cinci săptămâni care prezentau jetaj, edem facial și aerocaculită fibrino-purulentă (Hinz and Hafez, 1997).

Ulterior, în anul 1991, J. DuPreez observă la puii broiler din Africa de Sud o nouă boală cu manifestare respiratorie (van Beek et al., 1994). Boala a debutat într-un efectiv de pui broiler cu vârsta de 28 zile, a durat toată perioada de îngrășare, iar semnele clinice respiratorii de intensitate ușoară au constat în strănut, creșterea procentului de mortalitate și neîndeplinirea parametrilor de performanță. În urma examenului necropsic s-au constatat leziuni predominante la nivelul sacilor aerieni caracterizate prin prezența unui exsudat spumos, cu aspect de iaurt. Examenul bacteriologic la acel moment a relevat prezența unei tulpini bacteriene Gram-negative, pleomorfă, cu creștere lentă și care nu a putut fi identificată. Ulterior, s-a dovedit că bacteria izolată din Africa de Sud era identică din punct de vedere cultural și biochimic cu o bacterie *Pasteurella*-like izolată în 1987 de la rațe cu semne respiratorii din

Ungaria, dar și cu o tulpină asemănătoare cu *Riemerella anatipestifer* izolată în 1991 și 1992 de la curci cu semne respiratorii din Germania (Quinn and Markey, 2009).

Bacteria ORT a fost caracterizată complet pentru prima dată în 1993 de către Charlston și colaboratorii, iar în anul următor Vandamme și colaboratorii au raportat caracteristicile fenotipice clasice, chemotaxonomice și genotipice împreună cu poziția filogenetică în urma analizării a 21 de tulpini izolate. Denumirea finală de *Ornithobacterium rhinotracheale* a fost realizată de către Vandamme și colaboratorii (1994), iar după această dată a fost izolată în numeroase țări ale lumii fiind incriminată ca posibil agent patogen adițional în complexul bolilor respiratorii la păsări.

2.2.2 Etiologie

Ornithobacterium rhinotracheale este o bacterie Gram negativă, imobilă, pleomorfă, în formă de bastonaș, nesporulată, aparținând superfamiliei V RNA, întrudită taxonomic cu genurile *Cytophaga*, *Riemerella*, *Flavobacterium*, *Weeksella*, *Sporocytophaga* și *Capnocytophaga*. Conținutul tulpinilor în G-C variază între 37 și 39% (Vandamme et al., 1994). Până la ora actuală, nu s-a raportat prezența unor structuri sau proprietăți speciale, cum ar fi fimbriile, pilii sau activități toxice (Leroy-Setrin et al., 1998). Condiții optime de creștere se obțin prin cultivarea pe agar îmbogățit cu 5% sânge de oaie și incubarea în condiții de microaerofilie (5-10% CO₂), timp de 48 ore. În aceste condiții, ORT dezvoltă colonii mici după 24 ore de incubație. După 48 de ore, coloniile sunt mici, circulare, cu aspect untos, de culoare gri-albicioase, uneori ușor roșiatice și lucioase, cu miros specific de acid butiric. Tulpinile izolate în culturi pentru prima dată prezintă variații din punct de vedere al dimensiunii, de la 1 până la 3 mm după 48 de ore. Cultivate pe medii lichide, bacteriile sunt mai pleomorfe comparativ cu cele de pe agar, mai fine (0,2-0,6mm), cu dimensiuni variabile (0,5-6mm) și adesea au tendința de a se aglomera (van Empel and Hafez, 1999). Până la această oră sunt identificate 18 serotipuri de ORT (serotipurile A-R). La aceste tulpini nu s-a observat o specificitate de gazdă, totuși un studiu recent a demonstrat că aproximativ 61 % din tulpinile izolate de la curci aparțin serotipului A (Chin et al., 2013). Pe lângă serotipurile clasice au fost identificate și variante care produc colonii mult mai mici. Aceste variante se caracterizează printr-o rată de creștere mai lentă și produc colonii cu morfologie atipică (Zahra et al., 2013).

Transmiterea bolii se realizează în principal orizontal, direct sau indirect prin intermediul aerosolilor și a apei de băut, sau vertical prin intermediul ouălor (van Empel and Hafez, 1999; Chin et al., 2013). Studiile experimentale realizate pe curci ouătoare în vârstă de 55 săptămâni au arătat că bacteria ORT a fost capabilă să supraviețuiască în oviduct și în ovare, fără a produce semne clinice (Back et al., 1998; Nagaraja et al., 1998). ORT s-a izolat și de pe coaja ouălor și din sacul vitelin de la pui de o zi, deși cu o incidentă scăzută, sub 1%, ceea ce poate explica răspândirea rapidă a bacteriei în efectivele de păsări crescute în interes comercial (van Empel, 1997). Transmiterea rapidă în combinație cu dificultatea eradicării au condus la apariția unei

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

boli endemice cu răspândire globală, în special în țările cu tradiție în creșterea intensivă a curcilor (Hafez, 2002; Gornatti et al., 2012; Watteyn, 2016).

ORT poate supraviețui timp de o zi la 37⁰ C, șase zile la 22⁰ C, 40 zile la 4⁰ C și cel puțin 150 zile la -12⁰C (Lopes et al., 2002). Supraviețuirea bacteriei la temperaturi joase pare a fi asociată cu o incidență mai ridicată a infecției în sezoanele reci ale anului.

Ornithobacterium rhinotracheale fost izolată și de la fazani, porumbei, potârniche, prepelițe, rate, struți, găște și bibilici (Charlton et al., 1993; Vandamme et al., 1994; Anonymous, 1995; Buys, 1996; Devriese et al., 1995; Roger and Leorat, 1997; van Empel, 1997). În Statele Unite ale Americii, mortalitatea determinată de această bacterie a fost raportată a fi cuprinsă între 1 și 15%, uneori chiar până la 50% la curcanii adulți (De Rosa et al., 1996,1997; Tahseen, 1997).

Numeroase studii referitoare la infecția cu ORT raportează infecții concomitente cu alți agenți patogeni cu tropism respirator cum ar fi *Escherichia coli*, *Bordetella avium*, virusul bolii de Newcastle, virusul bronșitei infecțioase, metapneumovirusul aviar, *Mycoplasma synoviae* sau *Chlamydophila psittaci* (De Rosa et al.,1997; Erbeck et al., 1998; Hafez, 1998; Charlton,1999; Zorman-Rojs et al., 2000; van Loock et al., 2005). Drept urmare, studiile au concluzionat că în cazul inoculării bacteriei singură, aceasta produce leziuni patologice de gravitate mică, iar severitatea leziunilor este accentuată în cazul infecțiilor respiratorii concurente de origine bacteriană sau virală (van Veen et al., 2000).

2.2.3 Tablou clinic

Semnele clinice apar între două și patru zile de la infecție (van Empel et al., 1996). În acest stadiu timpuriu, bacteria se atașează de ciliile epiteliului sacilor aeriени din porțiunea respiratorie. Ulterior, în macrofagele de la nivelul sacilor aeriени și de la nivelul pulmonilor pot fi observate bacterii și resturi de celule fagocitate (van Empel and Hafez, 1999). Inocularea experimentală a bacteriei la curcani de 22 de săptămâni a rezultat în apariția unei stări de prostrație, cu tuse și scăderea consumului de hrană după 24 ore. În următoarele 48 de ore, păsările prezentau strănut și un mucus sangvinolent. La cinci zile post infecție, tusea a scăzut ca și intensitate, iar păsările care au supraviețuit prezentau o stare generală bună (Sprenger et al., 1998). Severitatea, durata și procentul de mortalitate în infecția cu ORT depinde în primul rând de tulpina implicată, de existența co-infecțiilor și de factorii de mediu.

Infecția cu ORT poate determina moarte bruscă a păsărilor în cazul localizării infecției la nivelul creierului și a craniului, cu sau fără prezența semnelor respiratorii (până la 20% în câteva zile) (Goovaerts et al., 1998).

Semnele clinice principale constau în jetaj și strănut, edem facial, dispnee, sinuzită, stare de abatere și scăderea apetitului. În cazul curcilor ouătoare se poate observa scăderea producției de ouă, cu producerea de ouă mici și cu coaja modificată. Fertilitatea și procentul de ecloziune nu sunt afectate (Hafez, 1996). Diferiți autori au raportat prezența unor semne clinice mai severe și o mortalitate mai ridicată în cazul

curcilor și curcanilor adulți, în timp ce efectivele de tineret afectate erau aparent sănătoase. Tineretul cu vârsta cuprinsă între două și opt săptămâni este cel mai afectat (Charlton, 1999; Roepke et al., 1998). În faza acută de boală, mortalitatea este cuprinsă între 1 și 15% (8 zile), însă în unele situații poate ajunge până la 50% (De Rosa et al., 1996).

Pe lângă semnele respiratorii, au fost raportare și semne neurologice, paralizii, artrite, meningite, osteite și osteomielite (van Empel and Hafez, 1999; Szalay et al., 2002).

2.2.4. Tablou anatomopatologic

Leziuni macroscopice. Cele mai frecvent întâlnite leziuni constau în pneumonii, pleurite și aerosaculite. Examinarea postmortem sau cu ocazia sacrificării în abator relevă prezența unui exsudat spumos, albicios și cremos pe pereții sacilor aerieni, în special cei abdominali, concomitent cu prezența în majoritatea cazurilor a unei pneumonii uni sau bilaterală (figura 2.2) (van Empel et al., 1996).



Fig. 2.2 Inflamația severă a pulmonului la curcan

Sursa: Hafez, 2014

Fig. 2.2 Severe inflammation of the lung in turkey

Sourse: Hafez, 2014

De asemenea, se constată edem pulmonar și îngroșarea uni sau bilaterală a pulmonilor cu un exsudat fibros și cu apariția unor aderențe la pleură. Pe lângă aceste leziuni, se mai pot constata aerosaculite fibrinopurulente, pericardite, peritonite sau traheite. În unele cazuri, se poate observa atât mărirea în volum a ficatului și splinei, cât și degenerarea miocardului (Hafez et al., 1993). La păsările adulte s-au întâlnit și leziuni inflamatorii la nivelul articulațiilor și vertebrelor. De remarcat este faptul că ORT prezintă o afinitate pentru articulația tibio-tarsală, ducând la apariția șchiopăturilor, mai ales la curcani din cauza greutatei corporale considerabile (Watteyn, 2016).

Leziuni microscopice. Majoritatea modificărilor histologice se observă la nivelul pulmonilor, pleurei și sacilor aerieni. În infecțiile naturale, pulmonii sunt congestionati, iar în parenchim se constată colecții de fibrină amestecate cu macrofage și heterofile care plutesc libere în lumenul capilarelor aeriene și a parabronhiilor. Se întâlnește și o infiltrare interstițială difuză și pronunțată cu macrofage. Sunt prezente numeroase focare de necroză, cel mai adesea cu centrul în interiorul lumenului parabronhiilor, cu extindere spre parenchimul învecinat. Aceste focare necrotice sunt de

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

obicei pline cu un exsudat sau infiltrat bogat în heterofile, iar în interiorul focarelor de necroză se observă agregate mici de bacterii. Capilarele sangvine pot fi dilatate și încărcate cu trombi de fibrină. Pleura și sacii aerieni pot fi îngroșați și edemațiați, iar pe suprafață să prezinte depozite de fibrină, infiltrat heterofilic difuz, focare mici de necroză și fibroză (Swayne and Glisson, 2013).

2.2.5 Diagnostic

Deoarece în infecția cu ORT semnele clinice și leziunile anatomo-patologice sunt similare cu cele din alte infecții respiratorii de origine virală sau bacteriană, pentru stabilirea diagnosticului este necesară izolarea și identificarea agentului cauzal. În complexul bolilor respiratorii aviare sunt implicate diferite specii bacteriene cum ar fi *Pasteurella multocida*, *P. gallinarum*, *P. haemolytica*, *Riemerella anatipestifer*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bordetella avium*, *Hemophyllus paragallinarum*, *E. coli* sau *C. psittaci*, de aceea este necesar a fi luate în considerare în cazul unui diagnostic diferențial (Chin et al., 2013).

Bacteria se izolează cel mai frecvent din trahee, pulmoni și saci aerieni. De asemenea, se poate izola și din tampoanele recoltate de la nivelul articulațiilor tibio-tarsale. Din cauza suprapunerii cu alte bacterii, ORT poate fi mascat în probele recoltate de la nivelul sinusurilor infraorbitale și a cavităților nazale.

Bacteria ORT se poate izola pe medii obișnuite, neselective, îmbogățite cu sânge sau pe agar chocolate. Coloniile se dezvoltă în 24h, dar se recomandă incubarea timp de 48-72 ore în condiții de mediu îmbogățit cu CO₂% în concentrație de 7.5-10%. Astfel, coloniile apar de mărimea unui vârful de ac (1-2 mm în diametru), de culoare gri sau gri-albicioase, rotunde și convexe, cu marginile regulate. Prin colorația Gram, se pune în evidență o bacterie Gram-negativă pleomorfă. Identificarea tulpinilor bacteriene se realizează pe baza proprietăților biochimice. Coloniile sunt pozitive pentru oxidază, urează, arginin dehidrolază, fosfohidrolază, α -glucosidază, N-acetyl- β -glucosaminidază, cu formare de acid prin fermentarea glucozei, fructozei, lactozei și galactozei; ORT nu reduce nitrații, este catalazo- și indolo- negativă și produce acid prin fermentarea maltozei, sucrozei, fructozei și ribozei (van Empel and Hafez, 1999).

Pentru dezvoltarea specifică pe agar cu sânge se adaugă gentamicină sau polimixină B, în vederea inhibării creșterii altor bacterii cum ar fi *E.coli*, *Pseudomonas* spp. sau *Proteus* spp (Garmyn et al., 2009). În cultură pură, ORT emană un miros distinct, de acid butiric.

În scop de diagnostic se poate utiliza reacția de aglutinare rapidă pe lamă, care nu este atât de sensibilă comparativ cu testul ELISA (Bock et al., 1997).

Pentru monitorizarea efectivelor de curci, serologia este o măsură utilă. Un dezavantaj al acestei metode constă în prezența de probe pozitive din cauza anticorpilor maternali și care nu se pot diferenția de anticorpii proveniți din infecția propriu-zisă. Prezența anticorpilor specifici anti-ORT pot fi detectați prin testul ELISA începând cu vârsta de o zi sau chiar din vitelus. În infecțiile naturale, titrul de anticorpi atinge un maxim la 1-4 săptămâni post infecție, și scade rapid, de aceea pentru

efectuarea screening-urilor este necesar recoltarea probelor de ser la vârste diferite (van Empel and Hafez, 1999). La ora actuală există kituri comerciale care utilizează diferite serotipuri sau antigene capabile să identifice un număr mare de serotipuri (Chin et al., 2013). Identificarea ORT se poate realiza și cu ajutorul tehnicii de imunofluorescență, imunohistochimie, sau prin identificarea unei secvențe a genomului bacterian prin PCR. Comparativ cu serologia și bacteriologia, cu ajutorul tehnicilor enumerate anterior se identifică un procent mai mare de păsări infectate (Chin et al., 2013).

2.2.6 Profilaxia și controlul bolii

Respectarea managementului și a condițiilor de crește sunt cerințe esențiale care trebuie respectate în creșterea curcilor și curcanilor, alături de menținerea unui nivel strict de biosecuritate, mai ales că ORT se răspândește ușor prin contact direct sau indirect, prin intermediul aerosolilor și a apei de băut (Chin et al., 2013). În plus, condițiile de mediu, cum ar fi managementul defectuos, ventilație inadecvată, lipsa igienei, supraaglomerarea, nivel ridicat de amoniu în aer, temperatură și umiditate neadecvate, pot conduce la exercitarea unei acțiuni patogene a bacteriei ORT. De aceea, este necesar menținerea acestor parametri la valori optime (van Empel and Hafez, 1999).

În vederea reducerii utilizării antibioticelor în tratamentul acestei infecții, se poate recurge la utilizarea vaccinurilor care pot oferi fie o imunitate completă, fie una parțială. În cazul infecției cu ORT, această metodă este de departe cea mai eficientă, deoarece infecția are un caracter endemic și este dificil de eradicat, iar bacteria dezvoltă rezistență la antibiotice. În ciuda acestor argumente, în Europa la ora actuală există un singur vaccin comercial împotriva infecției cu ORT, și anume vaccinul Nobilis OR Inac. Acest vaccin conține o suspensie de celule bacteriene inactivate aparținând ORT serotipul A, tulpina B3263/91. Acest vaccin este recomandat utilizării în cazul puicutelelor broiler de reproducție, pentru a transmite pasiv imunitatea progeniturilor. Schema recomandată de producător vizează administrarea unei doze de 0,25 ml la vârsta de 6-12 săptămâni, urmată de un rapel după 6 săptămâni, la vârsta de 14-18 săptămâni, cu o doză de 2,5 ml vaccin. Reproducătorii pot transmite imunitatea pasiv descendenților până la 43 de săptămâni de la ultima vaccinare. În cazul curcilor, utilizarea acestor vaccinurilor nu prezintă informații clare. Studii numeroase au fost efectuate pentru a testa eficiența unei game largi vaccinuri, cum ar fi vaccinuri preparate din bacterine, vaccinuri vii, vaccinuri recombinante, însă rezultatele obținute au fost foarte variate (Gornatti et al, 2012). Astfel, după vaccinarea puilor broiler cu vaccin comercial Nobilis OR Inac, performanțele productive au fost mai bune, iar procentul de mortalitate mai redus (Cauwerts et al., 2002, De Herdt et al., 2012).

Mult timp s-a considerat că utilizarea vaccinării în controlul bolii este ineficientă. Însă, studii realizate în condiții de teren, utilizând vaccinuri preparate din tulpini izolate din focar și inactivate s-au dovedit a fi eficiente în reducerea focarelor determinate de ORT (Bock et al., 1997). În plus, vaccinarea experimentală a puilor de

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

curcă la vârsta de 3 și 7 săptămâni cu vaccin inactivat a fost urmată de apariția anticorpilor protectori doar pentru o perioadă scurtă. Totuși, în grupului experimental vaccinat, mortalitatea înregistrată a fost semnificativ redusă, fiind cuprinsă între 1.79 și 3.63%, comparativ cu cea a grupului martor nevaccinat, unde mortalitatea a fost între 3.54 și 7.27%. În plus, la grupul vaccinat, rata confiscărilor de abator a fost cu 20% mai mică comparativ cu cea din grupul nevaccinat (van Empel and Hafez, 1999).

Vaccinurile inactivate existente sunt preparate din diferite serotipuri, de aceea acestea nu sunt eficiente în cazul unor focare unde sunt implicate mai multe serotipuri (Murthy et al, 2007). De aceea, cea mai eficientă strategie care să confere imunitate solidă păsărilor față de această infecție ar fi utilizarea unor serotipuri heterologe. Vaccinarea curcilor cu vaccinuri vii prezintă controverse, mai ales din cauza severității infecției cu ORT, dar și din cauza existenței unui vaccin inactivat foarte eficient. Vaccinarea puilor de curcă în vârstă de 6 săptămâni pe cale intranasală cu vaccin viu atenuat sau cu vaccin inactivat preparat din ORT, urmată de două administrări pe cale intratraheală la vârsta de 14, respectiv 21 de săptămâni a dus la obținerea unor rezultate contradictorii. Astfel, la păsările vaccinate frecvența leziunilor de aerosaculită și pneumonie a fost mai redusă, față de grupul martor nevaccinat (Sprenger et al., 2000). Studiile clinice realizate pe curcani crescuți pentru producție de carne au arătat că în cazul utilizării bacterinelor monovalente sau bivalente, anticorpii rezultați au fost detectați o perioadă scurtă de timp (van Empel and Hafez, 1999). Mai mult, procentul de mortalitate și rata confiscărilor de abator au fost mai scăzute în cazul grupul vaccinat față de grupul nevaccinat. De asemenea, vaccinarea tineretului de curcă cu bacterine autogene a condus la scăderea semnificativă a numărului de focare produse de ORT în Israel (Bock et al., 1997). Administrarea autovaccinului viu pe cale orală la pui de curcă în vârstă de 6 săptămâni a condus la scăderea frecvenței leziunilor și a procentului de mortalitate atunci când păsările au devenit adulte (Roepke, 2001). De asemenea, se pare că utilizarea vaccinului viu în combinație cu o bacterină ar fi eficientă în reducerea simptomelor produse de vaccinul viu (van Empel and van den Bosch, 1998).

Vaccinurile recombinante subunitare preparate din proteina recombinată a serotipului G oferă o protecție încrucișată față de serotipurile A, B și G (Schuijffel et al., 2005; 2006).

Tratamentul infecției cu ORT ridică multe probleme deoarece există o susceptibilitate variabilă a tulpinilor cunoscute. ORT poate dobândi o susceptibilitate redusă sau chiar rezistență împotriva antibioticelor cum ar fi amoxicilina, ampicilina, doxiciclina, enrofloxacină, gentamicina, lincomicina, tetraciclină sau tilozina (Swayen and Glisson, 2013). Studii realizate în Germania au arătat că 60% din tulpinile testate erau rezistente la enrofloxacină (Hafez, 1996), în timp ce în Franța și în Belgia, acolo unde ouăle nu sunt tratate, tulpinile testate erau foarte sensibile la antibiotice (Devriese et al., 1995). Însă, sensibilitatea ORT față de antibioticele menționate este contradictorie și depinde de fiecare tulpină testată. Totuși, antibioticele mai noi, cum sunt macrolidele, sunt mai active conform ghidului de utilizare rațională

a antibioticelor în avicultură, elaborat de către Institutul Belgian de Consum al Antibioticelor și de Rezistență la animale, iar combinația dintre trimetoprim și sulfonamide este recomandată în tratamentul infecției cu ORT (AMCRA, 2013). De asemenea, se pot administra și tetraciline (doxicilină, clortetraciclină) și amoxicilină, însă există un nivel ridicat de rezistență față de aceste două antibiotice. Dintre cele două antibiotice este de preferat administrarea doxiciclinei datorită unei biodisponibilități mai crescute pe cale orală comparativ cu clortetraciclina. Într-un studiu amplu, Marien et al., 2006 a arătat că cel mai eficient antibiotic a fost enrofloxacină administrată continuu în apa de băut în doză de 10mg/kg, urmat de florfenicol în doză de 20mg/kg, în timp ce amoxicilina în doză de 20mg/kg a fost ineficientă.

Tulpinile de *Ornithobacterium rhinotracheale* sunt sensibile la acțiunea dezinfectanților chimici. Cu bune rezultate se pot folosi produse pe bază de acizi organici.

În ultima perioadă, infecția cu *O. rhinotracheale* a devenit endemică în numeroase țări, putând afecta fiecare generație de păsări nou-achiziționate, chiar dacă adăposturile au fost supuse unui proces de curățenie și dezinfecție. Lipsa unui proces de curățenie și dezinfecție riguros efectuat după depopularea unui adăpost unde a evoluat această boală, poate duce la răspândirea agentului patogen la efectivele învecinate, iar bacteria să circule continuu de la un adăpost la altul.

CAPITOLUL 3

CADRUL ORGANIZATORIC ȘI INSTITUȚIONAL ÎN CARE S-AU DESFĂȘURAT CERCETĂRILE

CHAPTER 3

ORGANIZATIONAL AND INSTITUTIONAL FRAMEWORK

WHERE THE RESEARCH HAVE BEEN UNDERTAKEN

3.1. Cadrul natural

Cercetările au fost întreprinse în zona de centru a țării, pe raza județelor Brașov și Mureș, unde se află și concentrația cea mai mare a crescătorilor de pui de curcă în sistem intensiv din România, ce aparțin grupului de firme BRAVCOD S.A..

Cercetările noastre s-au desfășurat în șapte unități zootehnice avicole de creștere și îngrășare a hibrizilor de curcă de pe raza celor două județe, acestea fiind reprezentate de: Ferma 1, Ferma 2 și Ferma 5 aflate pe platforma de la Codlea, Ferma 6 (Sighișoara, jud. Mureș), Agro Nariman, Ferma Cărpiniș (Ferma 7) și ferma Romad Otis.

Facilitățile luate în studiu de pe platforma Codlea și reprezentate de fermele 1, 2 și 5 se află la distanțe foarte apropiate între ele iar în aceste ferme au fost crescuți cei mai mulți hibrizi de curcă pe toată durata studiului (2010-2016), respectiv 62,64% din întregul efectiv ce a fost luat în calcul în aceste cercetări. Astfel, în Ferma 1 s-au crescut un total de 1857901 hibrizi de curcă repartizați în 14 serii industriale, la Ferma 2 s-au crescut un total de 1594037 hibrizi de curcă repartizați în 14 serii industriale iar la Ferma 5 s-au crescut un număr de 1939990 hibrizi de curcă repartizați în 15 serii industriale.

Pe stabilimentul oferit de Ferma 6 s-au crescut un număr total de 1357019 hibrizi de curcă care au fost repartizați în 15 serii industriale în perioada 2010-2016.

În ferma Agro Nariman localizată pe raza localității Crizbav, județul Brașov, au fost crescuți 109950 hibrizi de curcă, repartizați în cinci serii de creștere și îngrășare.

Un număr de 1114116 păsări repartizate în 13 serii industriale extinse pe durata desfășurării experimentului s-au crescut în ferma Romad Otis de pe raza localității Hălchiu, jud. Brașov.

Ultima locație care a fost utilizată în cercetările noastre a fost reprezentată de ferma Cărpiniș, unde s-au crescut un număr de 580238 hibrizi de curcă repartizați în șase serii.

3.2. Cadrul organizatoric și instituțional

Cadrul organizatoric și instituțional în care s-au desfășurat cercetările acestui proiect de cercetare științifică a fost reprezentat de către:

1. Facultatea de Medicină Veterinară, ce funcționează în cadrul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară “Ion Ionescu de la Brad” din Iași și care a fost înființată în anul 1961. Direcțiile principale de cercetare sunt:

- cercetări fundamentale de medicină veterinară și medicină comparată;
- cercetări aplicative și fundamentale în patologia animală;
- cercetări de igienă a alimentelor de origine animală și protecția sănătății publice.

În cadrul Catedrei de Producții animaliere și Sănătate publică funcționează laboratoare de cercetare pentru serologie și biologie moleculară, unde s-aU desfășurat o parte din etapa cercetărilor proprii.

Cercetările acestui proiect de cercetare s-au desfășurat în:

Pavilionul de Microbiologie – Boli Infecțioase

Structură și dotare:

a. Laboratorul de Biologie Moleculară:

- hotă PCR;
- sistem de electroforeză orizontală;
- aparat vizualizare geluri Gell doc;
- Thermal Cycler Bio – Rad;
- aparat pentru apa ultrapură.

b. Laboratorul de Serologie:

- hotă tip II;
- incubator cu răcire;
- microscop ranversat cu imunofluorescență;
- microscop optic;
- linie ELISA Tecan : spălător și cititor Tecan Sunrise;
- bain – marie;
- centrifugă pentru tuburi de 15 ml ; 50 ml / 4000 rpm;
- centrifugă petru tuburi de 1,5 ml ; 2 ml / 13000 rpm;
- agitator magnetic;
- vortex;
- balanță laborator;
- bidistilator.

c. Laboratorul de Bacteriologie:

- incubator Binder;
- hotă chimică;
- autoclav orizontal cu capacitate de 90 litri;
- două hote flux laminar de tip II;
- aparat de preparat medii de cultură;
- etuvă.

d. Laboratorul de Culturi Celulare:

- Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv
- hotă flux laminar tip II;
 - incubator cu CO₂ Sanyo;
 - autoclav vertical cu capacitate de 110 litri;
 - incubator Incucell.

2. Praxix am Bergweg, Germania

Este un cabinet veterinar complex din Lohne, landul Renania de Nord-Westfalia care are ca și obiect principal de activitate furnizarea de servicii moderne de management al sănătății animalelor la suine și în domeniul avicol. În cadrul acestui cabinet s-au desfășurat examene clinice, consultanță veterinară privind creșterea curcanilor în sistem intensiv dar și examene morfopatologice complete (necropsii atât în ferme, cât și în sala de necropsie a cabinetului, recoltări de probe biologice).

3. Laboratorul LVL

Fondat în anul 1963 de către dr. Hans – Walter Schulze în Lohne. Este unul dintre cele mai moderne laboratoare veterinare din zona de nord a Germaniei. În acest laborator s-au efectuat examene bacteologice, s-a efectuat primul examen PCR care a pus în evidență virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) subtipurile A și B și tot în acest laborator a fost izolat pentru prima dată în anul 2012 *Ornitobacterium rinotracheale*.

4. ANICON labor Gm bH, Germania

Acest laborator a fost fondat în anul 2005 în regiunea Oldenburger Muensterland din nord-vestul Germaniei și a devenit unul dintre liderii din Germania în ceea ce privește oferirea de soluții pentru diagnosticul veterinar, producția de autovaccinuri specifice și securitatea alimentară, acesta oferind soluții pentru rumegătoare, porc, pasăre și pești. În cadrul acestui laborator s-au efectuat screeninguri serologice (ELISA) în anul 2012, examen PCR pentru TRT, precum și un autovaccin pentru ORT în anul 2013.

5. INSTITUTUL PASTEUR

În cadrul acestui laborator s-au efectuat screeninguri serologice utilizând tehnica ELISA, precum și unele examene PCR pentru identificarea virusului rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT).

6. VAXXINOVA

Este o companie din Germania care are peste 20 de ani de experiență în producția de vaccinuri autogene pentru pasăre, porc și pești. Aici s-au efectuat peste 75% dintre cercetările întreprinse la curcani, acestea fiind reprezentate de screening serologic, identificare genetică prin PCR, tulpini bacteriene izolate din cele șapte ferme luate în studiu care sunt stocate dar și autovaccinuri pentru ORT, realizate în perioada 2014-2016.

CAPITOLUL 4

SCOPUL ȘI OBIECTIVELE CERCETĂRILOR

CHAPTER 4

GOAL AND OBJECTIVE

Bolile respiratorii cauzează importante pierderi financiare în industria creșterii curcanilor peste tot în lume, manifestate atât prin nerealizarea sporului sau prin creșterea mortalității, cât și prin creșterea costurilor cu medicația sau sacrificările de necesitate.

Factorii principali ai dezvoltării bolilor respiratorii la curcani sunt reprezentați de o mare varietate de patogeni de origine bacteriană sau virală, dublate de condițiile tehnologice oferite de microclimat care are anumite particularități în funcție de fermă și de istoricul epidemiologic al acesteia.

Patogeneza infecțiilor respiratorii la curcani cauzate de infecțiile cu virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) și de infecțiile cu *Ornitobacterium rinotracheale* este departe de a fi elucidată separat și individual, și ea trebuie studiată și interpretată ca o afecțiune de sistem zootehnic care implică o serie de factori microbiologici oportuniști (*Mycoplasma sp.*, *Bordetella sp.*, *Escherichia coli* ș.a.), cât și factori favorizanți legați de construcția genetică a hibridului și de tehnologia de creștere (calitatea furajelor, asigurarea unei densități corespunzătoare, front suficient de furajare/adăpare, condiții de temperatură și umiditate ș.a.). Însă, în cazul acestor două infecții respiratorii luate în studiu apare, totuși un tablou clinic și lezional care ne pot ajuta în stabilirea diagnosticului clinic și, mai ales în îndrumarea pentru instaurarea unui tratament medicamentos imediat menit să limiteze pierderile masive prin mortalitate, precum și remedierea sanitar-veterinară a situației prin stingerea focarului de boală.

Creșterea curcanilor în sistem intensiv în România nu are o tradiție deosebită, de unde și lipsa studiilor referitoare la bolile respiratorii ale curcanilor, în special la hibridii de carne de ultimă generație. Pornind de la această realitate s-au demarat cercetări științifice materializate într-un final prin această teză de doctorat.

Scopul lucrării, intitulată ”**Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv**” a fost acela de a identifica principalii agenți infecțioși implicați în patologia respiratorie a curcanilor și cuantificarea impactului și a ratei de succes a principalelor măsuri de diagnostic, profilaxie și combatere luate la nivelul unităților avicole de creștere și îngrășare a curcanilor din cadrul companiei Bravcod SA, Codlea.

Primul obiectiv din cadrul tezei de doctorat a fost acela de a realiza un **studiu epidemiologic retrospectiv privind infecțiile respiratorii cu virusul rinotraheitei**

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

infecțioase a curcilor (TRT) și infecțiile cu *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT) la curcani crescuți în sistem intensiv. Acest studiu s-a desfășurat pe durata a șapte ani (2010-2016) și a implicat șapte ferme de creștere și îngrășare, iar materialul genetic a fost constituit din șapte hibrizi de curcă ce au fost furnizați din șapte țări diferite. Indicatorul analizat în acest studiu a fost mortalitatea, acesta fiind cuantificat per total perioadă sau în funcție de tipul de broiler utilizat. În plus, s-au putut observa eventualele tendințe apărute în timp, efectul anumitor erori tehnologice, vârsta critică unde indicatorul analizat a avut valoarea cea mai crescută.

Un al doilea obiectiv al cercetărilor întreprinse a fost reprezentat de **investigațiile clinice și tabloul anatomo-patologic privind infecțiile respiratorii cu virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) și infecțiile cu *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT) la curcani crescuți în sistem intensiv.** Prin acest obiectiv s-au realizat dezideratele legate de aspectele clinice constatate, precum și tabloul lezional evidențiat în urma efectuării actului necropsic atât în fermă cât și în laboratoare de diagnostic specializate.

Al treilea obiectiv al cercetărilor a fost și cel mai vast și a fost reprezentat de **stabilirea unei metodologii de imunoprofilaxie în bolile respiratorii TRT ȘI ORT la curcani adaptate la efectivele investigate.** Pentru început s-a recurs la un screening serologic necesar pentru a putea evalua situația reală la efectivele de hibrizi de curcani, apoi s-a efectuat și un examen genetic prin PCR pentru a putea identifica agenții etiologici luați în studiu. În plus, a fost evaluată eficacitatea unor protocoale imunoprofilactice în efectivele de curci utilizând diferite scheme vaccinale care s-au bazat fie pe vaccinuri comerciale furnizate de companiile farmaceutice din domeniu, fie pe vaccinuri autogene constituite cu tulpini din focar, iar rezultatele furnizate de aceste protocoale imunoprofilactice au fost evaluate.

Ultimul obiectiv propus în aceste cercetări a fost acela de a efectua un **studiu privind impactul economic al strategiilor imunoprofilactice aplicate** în industria creșterii curcanilor, corelat și cu celelalte cheltuieli de ordin sanitar-veterinar întâlnite în acest domeniu.

CAPITOLUL 5
STUDIUL EPIDEMIOLOGIC ÎN INFECȚIILE RESPIRATORII
CU TRT ȘI ORT LA CURCI ÎN SISTEM INTENSIV
CHAPTER 5
EPIDEMIOLOGICAL STUDY IN RESPIRATORY
INFECTIONS WITH TRT AND ORT IN TURKEYS IN
INTENSIVE SYSTEM

Creșterea broilerului de curcă în sistem intensiv permite realizarea unei producții ridicate de carne pe unitatea de suprafață, iar carnea obținută este de calitate superioară remarcându-se printr-un conținut crescut de fier, zinc, magneziu, vitamina B12, elemente esențiale menținerii sănătății. Carnea de curcă se remarcă și prin conținutul redus în colesterol ceea ce o recomandă la toate categoriile de vârstă. Bolile respiratorii ale curcanilor crescuți în sistem intensiv pot avea un impact economic negativ prin nerealizarea sporului în greutate, creșterea procentului de mortalitate, un cost ridicat cu medicația cât și cu numărul mare de confiscări la abatorizare. Controlul principalelor boli respiratorii ale curcanilor presupune un diagnostic corect al acestora la momentul potrivit pentru a putea interveni la timp. Reușita controlului depinde în mare măsură atât de diagnosticul acestora, cât și de planul de imunoprofilaxie și combatere abordat.

Metapneumovirusul aviar face parte din familia *Paramyxoviridae* și determină sindromul capului umflat la pui broiler (SHS) și rinotraheita curcilor care este o boală infecto-contagioasă endemico-epidemică manifestată clinic prin catar oculo-nazal, sinuzită infraorbitară, tumefierea capului și scăderea substanțială a producției de ouă.

La nivel mondial, metapneumovirusul aviar cauzează pierderi financiare considerabile industriei avicole încă de când a fost identificat pentru prima dată în anul 1978 în Africa de Sud, iar de atunci acesta s-a răspândit în toată lumea, cu excepția Australiei și a Canadei, practic a urmat fidel modelul de dezvoltare și expansiune a industriei de creștere și îngrășare a curcanilor în sistem intensiv odată ce a fost creată nevoia de consum a acestei specii.

ORT este o boală infecțioasă a curcilor și puilor broiler cauzată de bacteria *Ornitobacterium rinotracheale* ce face parte din genul *Ornitobacterium*, familia *Flavobacteriaceae*. ORT a fost identificată ca și boală la curcani la începutul anilor 90 în Germania, iar severitatea infecției depinde de gradul de patogenitate al tulpinii implicate dar și de alți factori de risc cum ar fi infecțiile virale, probleme de ventilație, vârsta, administrarea de vaccinuri virale, concurența microbiologică cu alte virusuri sau bacterii cu același tropism. *Ornitobacterium rinotracheale* a fost denumită pentru prima dată în 1994, iar până în prezent ea a fost izolată și tipizată în foarte multe țări,

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv determinând o infecție comună în fermele de curcani și de multe ori exacerbează sindromul respirator cauzat de pneumovirus.

De menționat este faptul că patologia respiratorie la curcani nu este determinată de o singură entitate virală sau bacteriană ci de un cocktail microbiologic din care fac parte atât virusuri ca TRT sau Newcastle dar și bacterii ca ORT, *Escherichia coli*, *Bordetella avium* ș.a. care se manifestă sau sunt exacerbate cu ajutorul unor deficiențe în tehnologia de creștere, curcanul fiind, din păcate, o specie destul de sensibilă în condițiile creșterii în sistem intensiv.

5.1. Scopul cercetărilor

În acest capitol s-a efectuat o investigație epidemiologică retrospectivă ce a cuprins perioada 2010-2016 în ceea ce privește rata mortalității înregistrate atât la curci cât și la curcani pe toată durata lor de viață la nivelul fermelor luate în studiu pentru a putea crea o imagine de ansamblu legată de creșterea curcanilor în sistem intensiv și implicațiile sale.

5.2. Materiale și metode

În intervalul de timp 2010-2016 s-au luat în studiu un efectiv total înregistrat de 8659750 hibrizi de curcă, dintre care 4265770 (49,26%) au fost curci iar 3806243 (50,74%) au fost curcani. S-au analizat un număr total 82 de serii de creștere în cei șapte ani luați în prezentul studiu de la populare și până la vârsta medie de livrare către abator de 14 săptămâni pentru curci (cu extreme de vârstă cuprinse între săptămâna 10 și săptămâna 19) și 19 săptămâni pentru curcani (cu extreme de vârstă cuprinse între săptămâna 11 și săptămâna 25). Cele 82 de serii de curci/curcani au fost crescute în 7 ferme avicole și anume: Ferma 1, Ferma 2, Ferma 5 (toate acestea sunt situate pe platforma avicolă Codlea), Ferma 6 (Sighișoara), Ferma Cărpiniș, Ferma Agro Nariman și Ferma Romad Otis. Materialul genetic utilizat a fost reprezentat de șapte hibrizi de curcă, după cum urmează: But 6, But 7, Hybrid Converter, Nicholas 300, Hybrid Grade Maker, Aviagen Premium și Hybrid XL. Aceștia au provenit de la furnizori din șapte țări diferite și anume: Germania, Franța, Slovacia, Austria, Polonia, Ungaria și Marea Britanie.

5.3. Rezultate și discuții

În anul 2010 s-au luat în studiu trei serii de hibrizi de curcă BUT 6 ce au provenit din Slovacia și Germania.

Tabelul 5.1./Table 5.1.**Mortalitatea înregistrată la hibridii de curcă în anul 2010****The mortality of turkeys registered in 2010**

Ferma	Efectiv	Mortalitate		F (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)	M (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)
		(%)	Nr.		(%)	Nr.			(%)	Nr.	
Ferma 1	88050	7,03	6191	35520	4,52	1606	16	52530	8,73	4586	20
Ferma 6	88400	8,53	7544	26520	7,75	2055	16	61880	8,87	5489	20
Ferma 5	164140	4,10	6736	92000	3,73	3432	16	72140	4,58	3304	16
TOTAL	340590	6,01	20471	154040	4,60	7092	16	186550	7,17	13379	19

Din cele trei serii luate în studiu în anul 2010 (340590 păsări) s-a înregistrat o valoare medie a mortalității de 6,01% (tabelul 5.1.) cu 4,60% la curci (cu valori extreme de 3,73% și 7,75%) livrate în medie la vârsta de 16 săptămâni și 7,17% la curcani (cu valori extreme de 4,58% și 8,87%) livrați la vârsta medie de 19 săptămâni.

Dinamica mortalității înregistrată la curci în 2010 a indicat valori mai ridicate în prima săptămână după populare comparativ cu ghidul de creștere al practicienilor veterinari din Germania (1,20%) în Ferma 1 (1,57%), respectiv Ferma 6 (2,67%) după care a mai fost înregistrată mortalitate peste ghid în săptămâna 8 (0,39%) la Ferma 1, precum și în săptămâna 9 (0,53%) la Ferma 6 (fig.5.1).

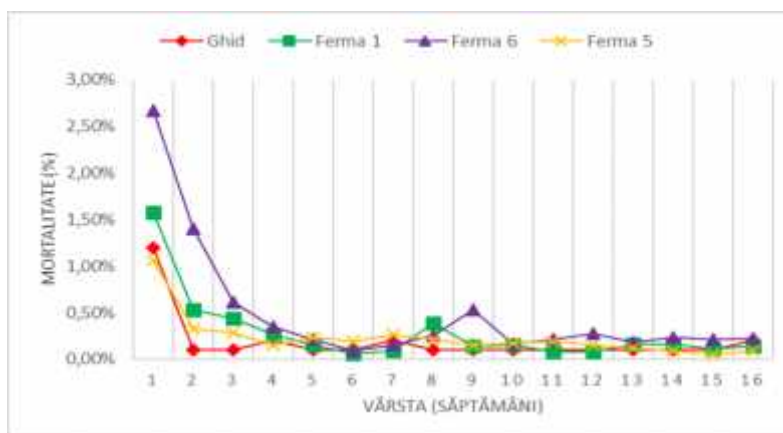


Fig.5.1. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2010 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.1. Kinetics of mortality percentage registered in turkey hens in 2010 reported by veterinary practitioners guide

Pe parcursul anului 2010 la curcani dinamica mortalității a indicat valori peste cele indicate de ghidul practicienilor veterinari (Germania) în prima săptămână după populare la Ferma 1 (2,38%) și Ferma 6 (1,85%) după care a urmat o perioadă de relativă „liniște epidemiologică” astfel încât spre finalul perioadei de creștere (săptămânile 17-20) s-a înregistrat un procent mai redus de mortalitate raportat la ghid (fig. 5.2).

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

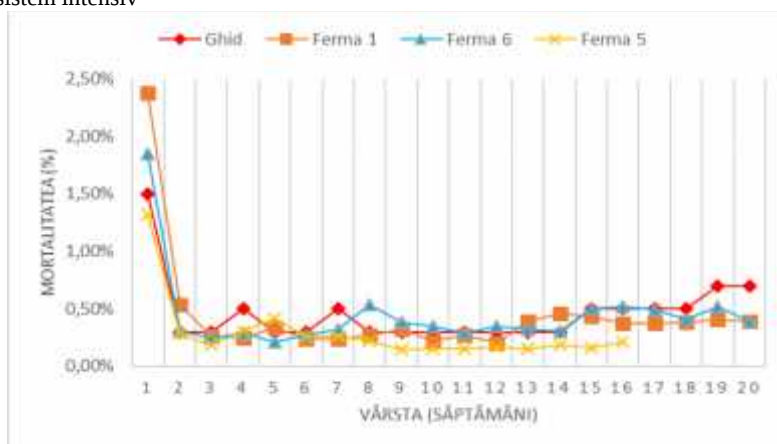


Fig.5.2. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2010 raportat la ghidul practicanților veterinar

Fig. 5.2. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys in 2010 reported by veterinary practitioners guide

În anul 2011 s-au luat în studiu nouă serii de curci/curcani ce provin din patru surse de material genetic și anume: BUT 6, BUT 7, BUT 8 și Hybrid Converter furnizate din patru țări (Germania, Franța, Anglia și Austria).

Tabelul 5.2./Table 5.2.

**Mortalitatea înregistrată la hibridii de curcă în anul 2011
The mortality of turkeys registered in 2011**

Ferma	Efectiv	Mortalitate		Femele (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)	Masculi (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)
		(%)	Nr.		(%)	Nr.			(%)	Nr.	
Ferma 5	170672	6,23	10631	66075	2,84	1877	15	104597	8,37	8755	20
Ferma 1	104730	2,57	2693	81205	2,34	1900	15	23525	3,37	793	17
Ferma 6	40732	4,40	1792	-	-	-	-	40732	4,40	1792	17
Romad	62746	2,29	1434	50386	1,77	892	12	12360	4,39	543	12
Ferma 2	92705	4,17	3968	51037	2,59	1322	17	41668	6,11	2546	17
Ferma 6	31809	5,14	1635	-	-	-	-	31809	5,14	1635	15
Ferma 5	112590	7,94	8944	55720	3,12	1738	15	56870	12,67	7205	15
Ferma 1	90809	7,56	6866	50509	6,38	3222	14	40300	9,04	3643	20
Romad	72923	4,24	3090	41148	2,93	1206	16	31775	5,93	1884	17
TOTAL	779716	5,25	40953	396080	3,07	12157	15	383636	7,51	28796	17

Procentul de mortalitate înregistrat în anul 2011 la seriile studiate a avut o valoare medie de 5,25% (tabelul 5.2.) din care la curci mortalitatea medie a fost de 3,07 (cu valori limită cuprinse între 1,77% și 6,38%) la vârsta de livrare medie de 15 săptămâni în timp ce la curcani mortalitatea medie a fost de 7,51% (cu valori limită cuprinse între 3,37% și 12,67%).

Cinetica mortalității înregistrată la cele șapte serii de curci luate în studiu în 2011 a evidențiat valori semnificative (fig.5.3), peste ghid în prima săptămână de la populare la Ferma 1 seria 2 (2,41%) și tot la această serie în săptămâna 4 (1,19%), săptămâna 8 (0,59%) și săptămâna 9 (0,51%). În plus, valori crescute ale mortalității au mai fost înregistrate la Ferma 5 seria 2 în săptămâna 8 (0,53%), precum și la Ferma Romad Otis în săptămâna 10 seria 2 (0,39%).

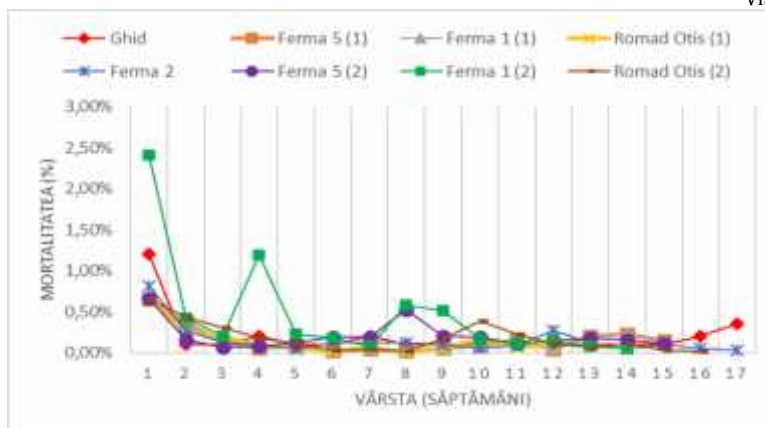


Fig.5.3. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2011 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.3. Kinetics of mortality percentage registered in turkey hens in 2011 reported by veterinary practitioners guide

Cinetica mortalității înregistrată la cele nouă serii de curcani luate în studiu în 2011 a evidențiat, în general, valori ale mortalității foarte apropiate de cele descrise de ghidul practicienilor veterinari (fig.5.4), însă au fost și excepții în prima săptămână după populare și reprezentate de către Ferma 5 seria 2 (7,93%), precum și Ferma 1 seria 2 (2,70%).

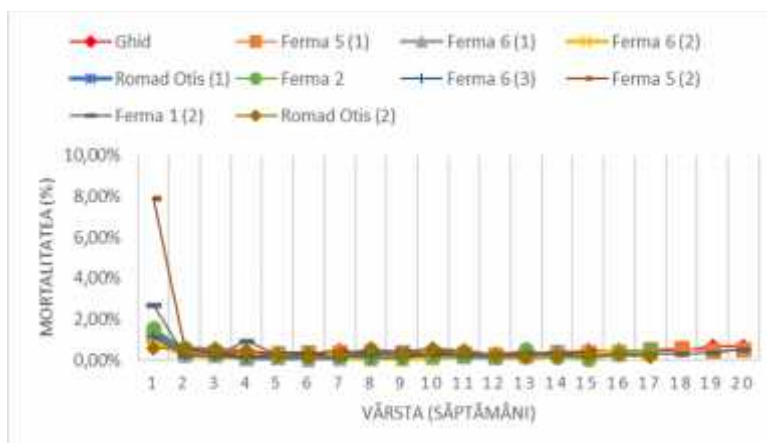


Fig.5.4. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2011 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.4. Kinetics of mortality percentage registered in turkey in 2011 reported by veterinary practitioners guide

În anul 2012 s-a utilizat în studiu ca și material genetic un număr de cinci hibridi de curcă reprezentați de: Hybrid Grade Maker, Converter, Nicholas 300, BUT 6 ȘI Hybrid XL ce provin din patru țări (Germania, Austria, Franța și Polonia).

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Tabelul 5.3./Table 5.3.

Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2012

The mortality of turkeys registered in 2012

Ferma	Efectiv	Mortalitate		Femele (nr.)	Mortalitate		Vârsta (săpt.)	Masculi (nr.)	Mortalitate		Vârsta (săpt.)
		(%)	Nr.		(%)	Nr.			(%)	Nr.	
Ferma 3	263528	12,68	33408	162400	16	25932	13	101120	7,37	7453	14
Ferma 6	106445	13,90	14796	-	-	-	-	106445	13,9	14796	20
Ferma 2	109288	14,70	16093	74972	15,4	11523	23	34616	13,49	4670	25
Rondul Cici	78700	4,93	3879	44200	3,46	1529	16	34500	6,81	2340	21
Ferma 1	125472	12,12	15202	36066	7,11	2580	18	89406	14,13	12642	18
Ferma 2	82456	16,09	13216	47840	7,48	3578	12	34616	27,84	9637	19
Ferma 5	192080	17,87	34432	81578	16	14633	15	101120	18,38	18798	15
Ferma 6	43024	7,88	3311	-	-	-	-	43024	7,88	3311	23
Ferma 1	145880	27,58	40646	83326	23,8	22218	12	62554	33,13	18426	19
Rondul Cici	83794	15,61	11423	66914	15,8	105730	13	108886	5,04	851	16
Ferma 6	43200	7,41	3201	-	-	-	-	43200	7,41	3201	19
Ferma 2	76971	5,14	3957	58212	4,37	2456	13	20759	7,23	1581	20
TOTAL	1388660	14,34	193668	673434	14,11	89014	15	677226	14,57	88646	19

Procentul de mortalitate înregistrat în 2012 la hibrizii de curcă luați în studiu a avut o valoare medie de 14,34% (tabelul 5.3) din care mortalitate medie înregistrată la curci a fost de 14,11% (cu valori limită extreme de 1,58% și 23,8%), iar valoarea medie a mortalității înregistrate la curcani a fost de 14,57% (valorile extreme fiind de 5,04% și 35,13%).

În anul 2012 s-a înregistrat un procent al mortalității foarte ridicat (14,34%) comparativ cu anul 2011 (5,25%) iar dinamica acestui indicator la cele nouă serii de curci a fost alarmantă, ea neputând fi încadrată într-o tendință anume, reprezentarea grafică fiind „în dinți de ferăstrău” (fig.5.5) cu valori foarte ridicate ale mortalității (cu o valoare extremă de 6,5% la Ferma 1 seria 2 în săptămâna 8) până în săptămâna 12 după care se apropie foarte mult de valorile descrise de ghid.

În această industrie există o relație strânsă și de interdependență între diferitele sectoare de activitate așa cum sunt sectorul sanitar-veterinar, sectorul tehnologic, sectorul economic și sectorul financiar. O posibilă cauză a creșterii mortalității ar putea fi reprezentată de faptul că nu s-a respectat un principiu tehnologic de bază și anume „Principiul populării și al depopulării totale”, halele de creștere fiind populate parțial ceea ce a dus la o creștere accelerată a presiunii microbiene ambientale. Această problemă a fost generată de o supraestimare economică și anume faptul că în perioada de vârf a vânzării cărnii de curcă, respectiv Sărbătorile Pascale nu s-a consumat cantitatea estimată de către echipa de Marketing dublată de una financiară tradusă prin faptul că s-a ajuns la un blocaj tehnologic deoarece ca să nu se piardă timp și să se poată exploata la maximum potențialul halelor de creștere au sosit noile serii de curcani pentru care la acea dată nu exista fizic front de creștere datorat prelungirii seriilor anterioare nevalorificate economic iar singura variantă a fost popularea unor hale care nu au fost complet depopulate și decontaminate. Ca măsură ulterioară dictată de pierderile mari atât ca număr, dar mai ales ca valoare economică s-au recoltat tampoane traheale, s-a recurs la serologie și chiar PCR pentru a scădea presiunea microbiologică, deoarece tratamentul medicamentos nu a furnizat rezultatele scontate.

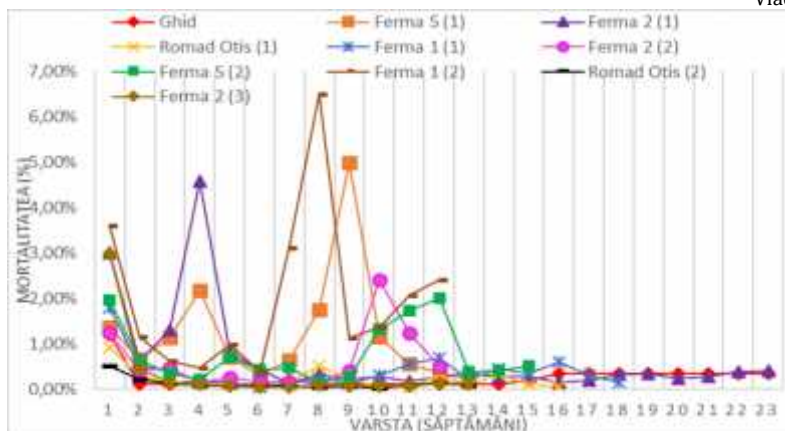


Fig.5.5. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2012 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.5. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys hen in 2012 reported by veterinary practitioners guide

În anul 2012 la cele 12 serii de curcani luate în studiu s-a constatat o dinamică a procentului de mortalitate crescută la populare (fig.5.6), iar mai apoi apar focare de mortalitate crescută în intervalul 8-12 săptămâni, valoarea extremă fiind de 12,18% în săptămâna 10 înregistrată la Ferma 1 seria 2.

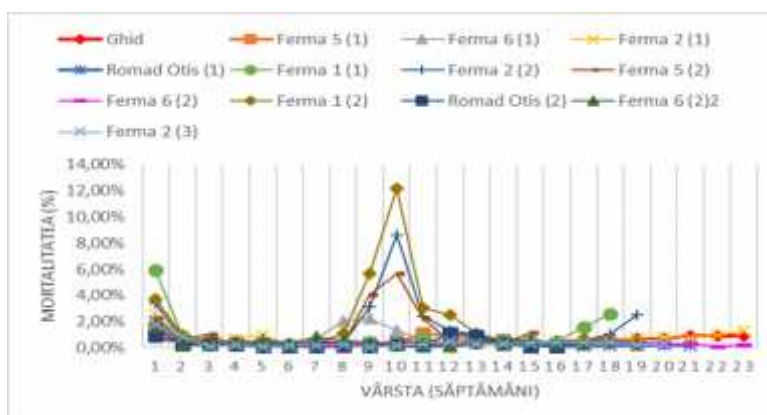


Fig.5.6. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2012 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.6. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys in 2012 reported by veterinary practitioners guide

În anul 2013 zestrea de material genetic luată în studiu a fost reprezentată de patru hibridi reprezentați de BUT 6, Hybrid Grade Maker, Converter și Aviagen Premium ce au fost furnizați din Germania, Anglia și Franța.

Tabelul 5.4./Table 5.4.

Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2013

The mortality of turkeys registered in 2013

Ferma	Efectiv	Mortalitate		Femele (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)	Masculi (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)
		(%)	Nr.		(%)	Nr.			(%)	Nr.	
Ferma 5	106500	4,94	5261	106500	4,94	5261	15	-	-	-	-
Ferma 1	146308	5,28	17718	73503	4,24	3117	13	72805	6,32	4601	17
Romad Otis	86150	9,18	7909	86150	9,18	7909	13	-	-	-	-
Ferma 6	105600	4,91	5180	52800	3,05	1610	11	52800	6,76	3569	12
Ferma 2	122580	5,66	6938	61290	4,09	2507	14	61290	7,23	4431	20
Ferma 5	111240	5,96	6634	33372	4,06	1355	12	77868	6,78	5279	18
Ferma 1	106000	7,05	7476	33900	3,57	1210	11	72100	8,69	6265	16
Romad Otis	82400	5,90	4857	24720	3,41	843	14	57680	6,96	4015	17
Ferma 6	110990	4,76	5283	36412	3,98	1449	11	74578	5,14	3833	12
Ferma 2	119540	7,94	9491	35723	5,78	2065	13	83817	8,86	7426	17
Ferma 5	106499	8,02	8544	28766	4,49	1292	13	77733	9,33	7252	18
TOTAL	1203807	6,25	75290	573136	4,99	28617	13	630671	7,40	46673	16

Valoare medie a procentului de mortalitate înregistrat în 2013 a fost de 6,25% (tabelul 5.4), în scădere cu 56.4% raportat la anul 2012. La curci valoarea medie a mortalității a fost de 4,99% (cu valori extreme de 3,05%, respectiv 5,78%), în timp ce la curcani mortalitatea medie a fost de 7,40% (valorile extreme înregistrate fiind de 5,14%, respectiv 9,33%).

Dinamica mortalității la cele nouă serii de curci în anul 2013 a debutat cu valori mai mari comparativ cu ghidul practicienilor veterinari la populare, valoarea extremă fiind de 6,25% înregistrată la Romad Otis seria 1 (fig.5.7), după care dinamica a urmat fidel tendința indicată de ghid, neexistând dificultăți suplimentare care ar putea fi luate în calcul.

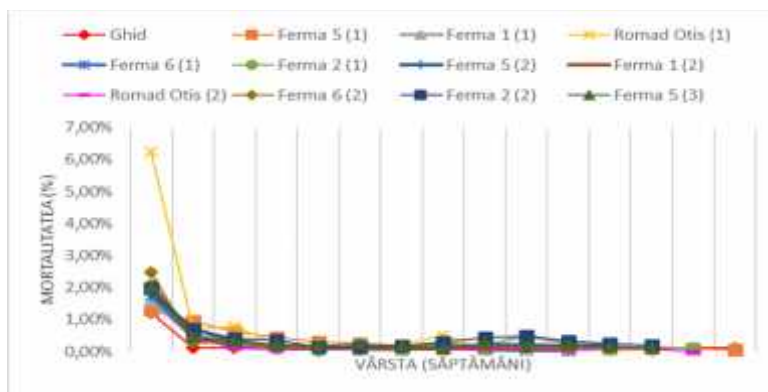


Fig.5.7. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2013 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.7. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys hen in 2013 reported by veterinary practitioners guide

În anul 2013 cele 11 serii de curcani luate în studiu au furnizat o dinamică a mortalității care urmărește îndeaproape ghidul practicienilor veterinari cu excepția primei săptămâni atunci când procentul de mortalitate a fost mai crescut, valoarea cea mai mare fiind de 3,99% înregistrată la Ferma 6, seria 1 (fig.5.8).

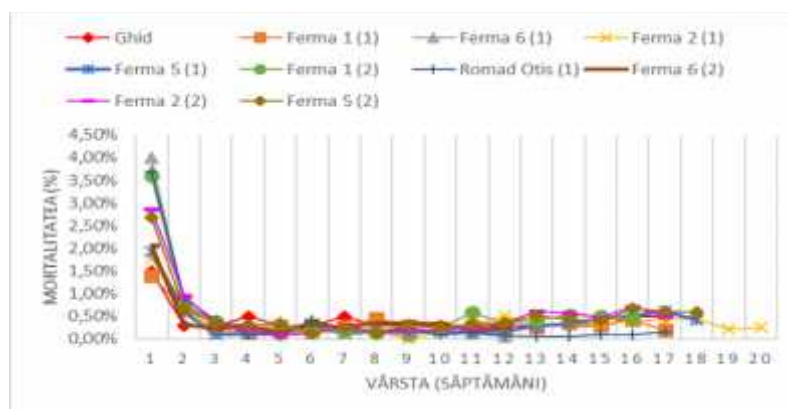


Fig.5.8. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2013 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.8. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys in 2013 reported by veterinary practitioners guide

În anul 2014 s-a luat în studiu numărul cel mai mare de serii din acest proiect și anume 18 serii care au fost reprezentate de patru hibrizi (Converter, BUT 6, Hybrid Grade Maker și Hybrid XL) care au provenit din Germania, Anglia și Franța.

Tabelul 5.5./Table 5.5.

Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2014

The mortality of turkeys registered in 2014

Ferma	Efectiv	Mortalitate		Femele (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)	Masculi (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)
		(%)	Nr.		(%)	Nr.			(%)	Nr.	
Ferma 6	113400	5,61	6357	54900	3,14	1724	11	58500	7,32	4633	17
Ferma 2	123525	7,52	10493	76185	5,15	3824	18	56340	11,66	6569	19
Ferma 5	185679	6,04	10024	107159	4,84	5186	15	58520	8,25	4828	15
Romad Otis	110099	3,59	3957	45825	3,22	1476	17	64274	3,86	2481	15
Ferma 1	124850	9,44	11787	33900	4,99	1692	19	90950	11,1	10095	19
Ferma 6	110042	5,69	6259	60102	3,7	2224	15	49940	8,08	4035	18
Ferma 2	129440	4,31	5585	45546	2,7	1230	10	83914	5,19	4355	11
Ferma 5	132099	7,34	9427	88096	6,58	5796	15	44009	8,25	3631	15
Ferma 1	157232	10,93	17389	53080	7,25	3993	10	102132	12,92	13195	19
Romad Otis	109556	2,74	2924	42282	1,2	507	15	64274	3,76	2427	25
Cărpiniș	85390	2,92	2488	41743	1,9	793	12	43447	3,9	1694	17
Ferma 6	127780	5,09	6505	62612	1,72	1077	12	65168	8,33	5428	25
Agro Marisari	20650	3,66	756	20119	2,43	246	14	10531	4,84	510	19
Ferma 2	121976	4,50	5490	59768	2,4	1434	14	62208	6,52	4066	19
Ferma 5	91920	9,32	8566	45041	5,56	2504	15	46879	12,93	6061	20
Ferma 1	131460	5,52	7253	64415	2,33	1501	12	67045	8,58	5752	20
Cărpiniș	83720	3,35	2778	42885	1,53	656	13	44635	5,29	2272	19
Ferma 2	122090	6,25	7631	60660	4,01	2432	16	61370	8,47	5298	20
TOTAL	2079448	6,07	125608	996312	3,85	38186	14	1074136	8,12	87212	18

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Mortalitatea medie înregistrată la cele 18 serii luate în studiu a fost de 6,07% (tabelul 5.5) din care 3,85% a fost mortalitatea medie înregistrată la curci (cu valori extreme de 1,20%, respectiv 7,25%) în timp ce la curcani a fost înregistrată o mortalitate medie de 8,12% (valorile extreme fiind de 3,76%, respectiv 12,93%).

La curci dinamica mortalității pe parcursul anului 2014 a arătat valori foarte mari imediat după populare (fig. 5.9) la majoritatea seriilor (valoarea maximă de 2,42% fiind înregistrată la Ferma 1 seria 2) după care s-a menținut la majoritatea seriilor luate în studiu peste valorile din ghid, tot la această fermă fiind înregistrată și cea mai mare valoare în săptămâna 9 de 1,70%.

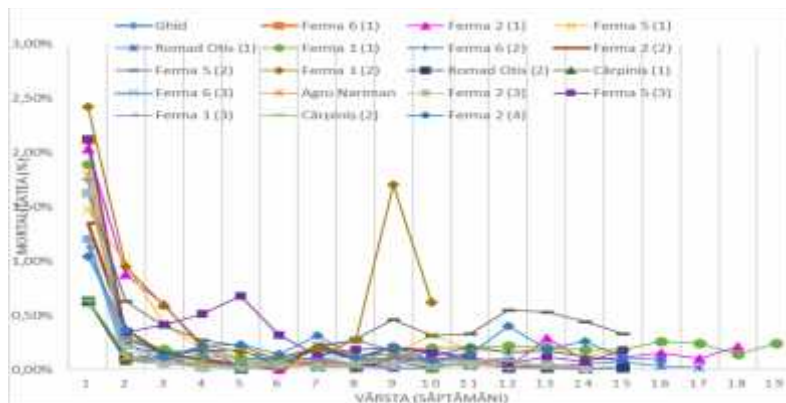


Fig.5.9. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2014 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.9. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys hen in 2014 reported by veterinary practitioners guide

Pe parcursul anului 2014 dinamica mortalității a fost crescută imediat după populare (fig. 5.10), după care aceasta a înregistrat valori peste ghid mai ales spre sfârșitul seriei datorită presiunii microbiene crescute din cauza nerespectării timpilor corespunzători de vid sanitar. Totodată, spre sfârșitul seriilor s-a identificat focare diagnosticate de colibaciloză și pasteureloză.

De notat este faptul că începând cu anul 2014 a fost pusă în funcțiune propria stație de incubație menită să furnizeze material genetic de calitate superioară, oricând este nevoie dar și să reducă din costurile cumulate ale acestei industrii.

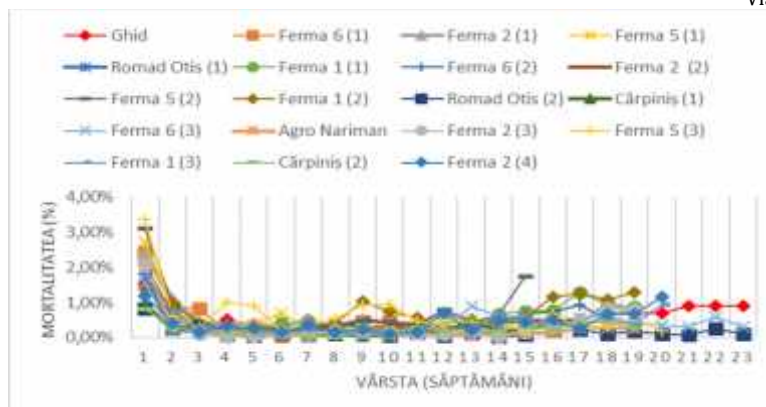


Fig.5.10. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2014 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.10. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys in 2014 reported by veterinary practitioners guide

În anul 2015 s-au luat în studiu un număr de 16 serii reprezentate de trei hibrizi de curcă și anume: Converter, BUT 6 și Hybrid Grade Maker furnizați din Germania, Franța și Ungaria.

Tabelul 5.6./Table 5.6.

Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2015

The mortality of turkeys registered in 2015

Ferma	Efectiv	Mortalitate		F	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)	M (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)
		(%)	Nr.		(%)	Nr.			(%)	Nr.	
Romad Otis	89373	4,17	3726	44717	2,15	961	15	44656	6,19	2764	20
Agro Nariman	21920	4,50	987	11200	1,89	212	13	10720	7,23	775	22
Ferma 6	96260	10,46	10065	50930	4,57	2328	16	45330	17,07	7738	25
Ferma 5	98610	7,07	6973	52820	4,55	2403	15	45790	9,98	4570	23
Ferma 1	267680	10,32	27633	139142	4,58	6373	15	128538	16,54	21260	23
Cărpiniș	98830	6,37	6297	52630	2,73	1437	15	46200	10,52	4860	23
Ferma 2	174930	9,25	16183	93440	4,9	4579	15	81490	14,24	11604	21
Romad Otis	84150	6,36	5352	47260	4,05	1914	19	36890	9,32	3438	23
Agro Nariman	24670	5,62	1386	12400	2,19	272	13	12270	9,08	1114	23
Ferma 6	118295	7,74	9158	59450	3,28	1950	15	58845	12,25	7209	22
Ferma 5	108990	5,89	6415	62330	3,12	1945	13	46660	9,58	4470	23
Ferma 1	141020	8,48	11956	71640	3,46	2479	11	69380	13,66	9477	23
Cărpiniș	117800	5,73	6745	57930	2,3	1332	13	59870	9,04	5412	23
Ferma 2	124170	6,92	8590	61785	3,22	1989	16	62385	10,58	6600	23
Romad Otis	100050	7,34	7339	48030	4,07	1955	17	52020	10,35	5384	21
Agro Nariman	23480	5,92	1390	11570	3,16	366	11	11910	8,6	1024	22
TOTAL	1690228	7,70	130194	877274	3,70	32493	15	812954	12,02	97701	23

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Mortalitatea medie înregistrată la cele 16 serii studiate în 2015 a fost de 7,70% (tabelul 5.6), din care 3,70% a fost mortalitatea înregistrată la curci (cu valori extreme de 1,89%, respectiv 4,9%), în timp ce la curcani mortalitatea medie înregistrată a fost de 12,02% (valorile extreme fiind de 6,19%, respectiv 17,07%).

Dinamica mortalității la curci pe parcursul anului 2015 s-a menținut în același trend cu ghidul practicienilor veterinari (fig.5.11), exceptând perioada imediat după populare atunci când procentul a fost crescut la majoritatea seriilor studiate.

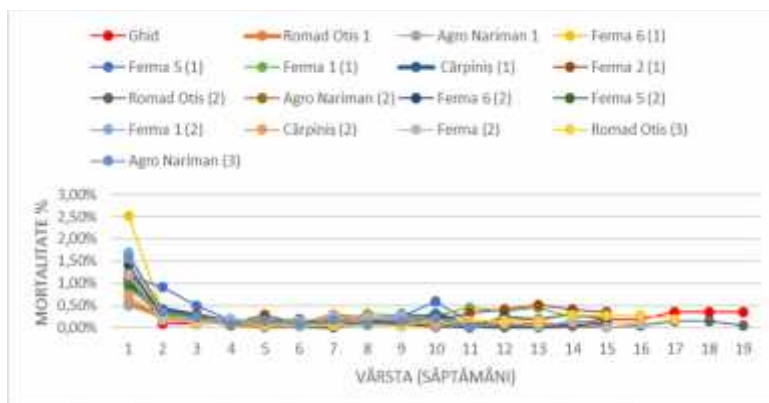


Fig.5.11. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2015 raportat la ghidul practicanților veterinari
Fig. 5.11. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys hen in 2015 reported by veterinary practitioners guide

Pe de altă parte, dinamica mortalității la curcani în 2015 la seriile studiate urmărește același trend până în săptămâna 12 după care valoarea acestui indicator epidemiologic crește până la livrarea spre valorificare prin abatorizare (fig. 5.12), creșterea cea mai mare fiind înregistrată la Ferma 6 seria 1 din săptămâna 19 (2,83%).

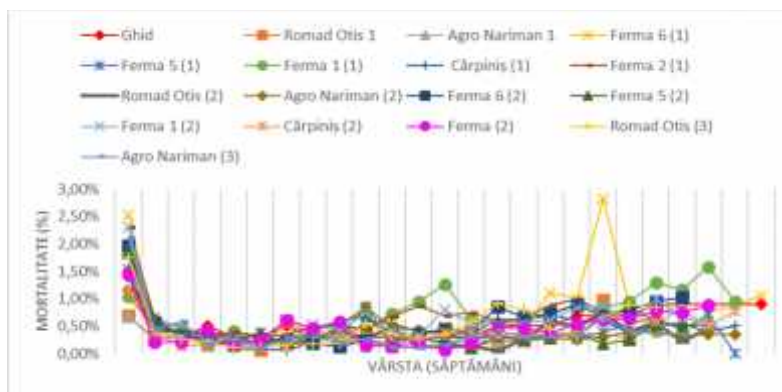


Fig.5.12. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2015 raportat la ghidul practicanților veterinari
Fig. 5.12. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys in 2015 reported by veterinary practitioners guide

În anul 2016 au intrat în studiu nouă serii reprezentate ca și material genetic de doi hibridi reprezentați de BUT 6 și Converter ouă de incubație provenind din Germania și Franța.

Tabelul 5.7./Table 5.7.

Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2016
The mortality of turkeys registered in 2016

Ferma	Efectiv	Mortalitate		Femele (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)	Masculi (nr.)	Mortalitate		Vârsta livrare (săpt.)
		(%)	Nr.		(%)	Nr.			(%)	Nr.	
Ferma 5	95640	6,57	6283	46790	3,98	1862	17	48850	9,05	4421	21
Ferma 1	109740	9,17	10064	53700	4,58	2459	12	56040	13,57	7605	21
Cărpiniș	106000	4,47	4742	51420	1,92	987	14	54580	6,88	3755	22
Ferma 2	98056	6,45	6320	49028	3,6	1765	16	49028	9,29	4555	21
Romad Otis	84500	5,41	4574	40270	2,44	983	13	44230	8,12	3591	23
Agro Nariman	19230	5,50	1057	9150	2,64	242	13	10080	8,09	815	23
Ferma 5	125700	4,47	5615	59170	2,44	1444	13	66530	6,27	4171	20
Ferma 6	101522	5,08	5161	48496	2,54	1232	13	53026	7,41	3029	21
Ferma 1	118770	6,65	7903	57340	3,37	1932	14	61430	9,72	5971	21
TOTAL	859158	6,02	51720	415364	3,11	12906	14	443794	8,75	38814	21

În anul 2016 au fost luate în studiu nouă serii iar procentul mediu de mortalitate fiind de 6,02%, din care 3,11% la curci (cu limite extreme de 1,92%, respectiv 4,58%), iar 8,75% la curcani (valorile extreme fiind reprezentate de 6,27%, respectiv 13,57%).

Cinetica mortalității la curci a arătat că acest parametru se menține în trend cu ghidul, excepție făcând prima săptămână de la populare când valorile mortalității au fost mult crescute (fig. 5.13), maxima fiind înregistrată la Ferma 1, seria 1 (1,92%).

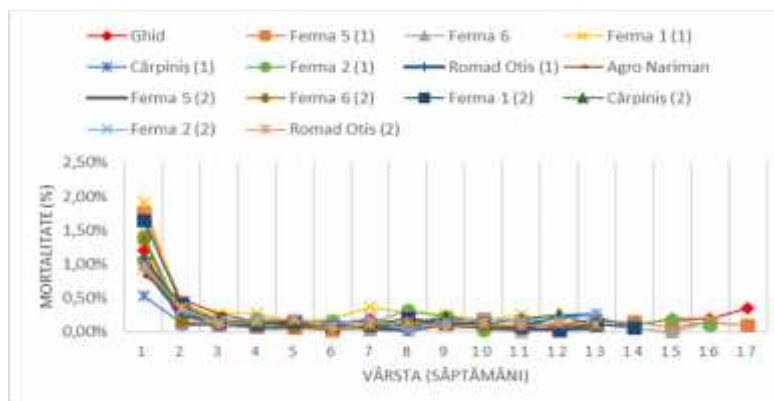


Fig.5.13. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2016 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.13. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys hen in 2016 reported by veterinary practitioners guide

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

În același timp dinamica mortalității la curcani a înregistrat valori crescute la populare, apoi trendul a fost asemanător cu cel indicat de către ghidul practicienilor veterinari din Germania (fig.5.14).

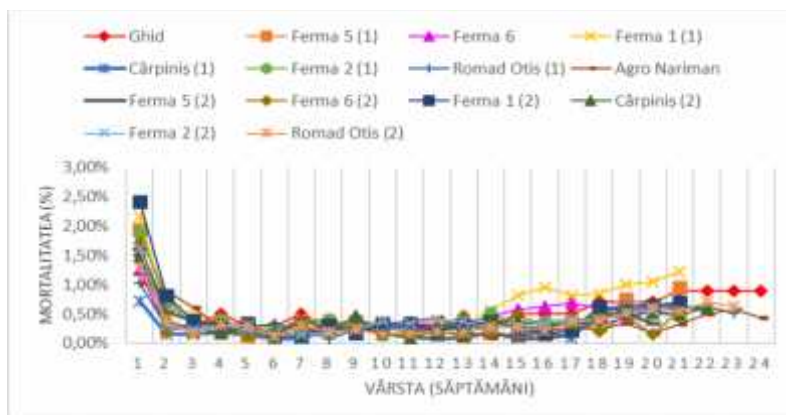


Fig.5.14. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2016 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig. 5.14. Kinetics of mortality percentage registered in turkeys in 2016 reported by veterinary practitioners guide

Indicatorul epidemiologic mortalitate anuală din intervalul de timp 2010-2016 a avut o valoare unitară medie de 7,61%, această valoare fiind obținută pe cele șapte ferme avicole de creștere de la cele 82 de serii de curci și curcani luate în studiu (8659750 păsări), reprezentate din punct de vedere al materialului genetic de șapte hibrizi de carne ce au provenit din șapte țări. Procentul cel mai crescut de mortalitate totală a fost înregistrat în anul 2012 și a fost de 14,34%, iar procentul de mortalitate cel mai redus în cei șapte ani de studiu a fost înregistrat în anul 2011 și a fost de 5,25% (fig.5.15).

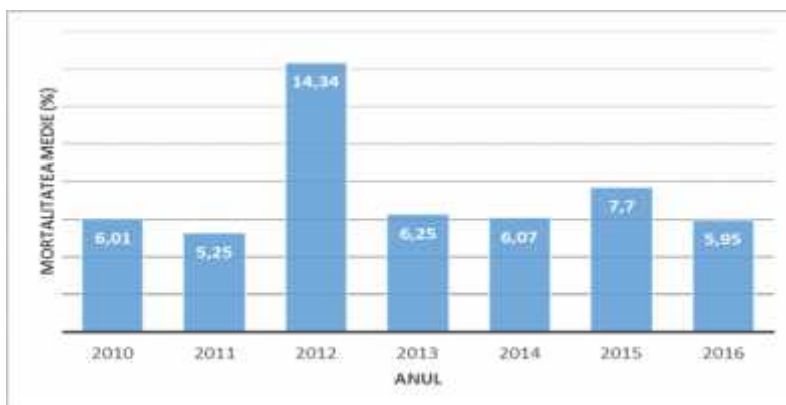


Fig.5.15. Rata mortalității pe toată durata efectuării studiului (2010-2016)

Fig.5.15. The mortality rate during the entire study period (2010-2016)

Dacă se calculează mortalitatea și în funcție de ferma de creștere și îngrășare care a fost populată cu hibrizi de curcă pe toată durata efectuării studiului, indiferent de numărul de serii care au fost exploatate în aceste facilități zootehnice, atunci se

poate observa că procentul cel mai crescut de mortalitate a fost înregistrat la Ferma 1 (20%), iar cel mai redus a fost înregistrat la Ferma Cărpiniș (10%) (fig. 5.16).

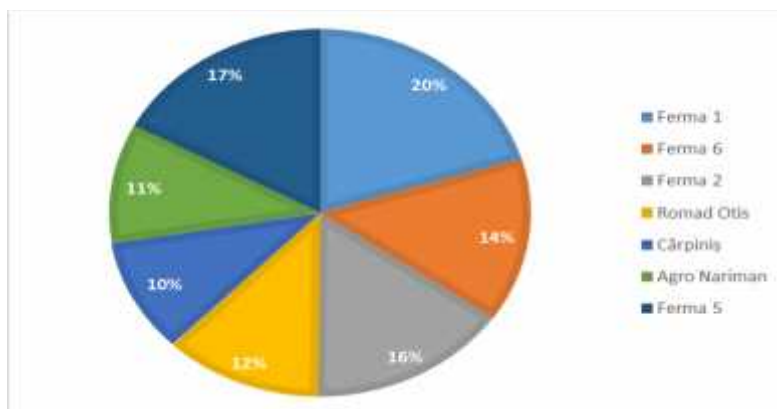


Fig.5.16. Evoluția indicatorului mortalitate raportat la unitatea de creștere
Fig.5.16. The evolution of mortality indicator per farm

Conform ghidului de creștere al curcanilor de carne în sistem intensiv (tabelul 5.8) indicele de mortalitate înregistrat la curci este de 3-4% iar la curcani mortalitatea este de 8-14%.

Tabelul 5.8./Table 5.8.

Mortalitatea corelată cu vârsta-Ghid de creștere
Age-related mortality-Book of reference

Săptămâna	Sex	
	Curci 3-4%	Curcani 8-14%
1	1,2	1,5
2	0,1	0,3
3	0,1	0,3
4	>0,2	>0,5
5	0,1	0,3
6	0,1	0,3
7	>0,2	>0,5
8	0,1	0,3
9	0,1	0,3
10	0,1	0,3
11	0,1	0,3
12	0,1	0,3
13	0,1	0,3
14	0,1	0,3
15	0,2	0,3
16	0,2	0,5
17	>0,2	0,5
18	>0,2	0,5
19	>0,2	0,7
20	>0,2	0,7
21	>0,2	>0,7

Astfel, dacă se calculează o valoare medie a mortalității pe ambele sexe conform valorilor indicate în ghidul de creștere, aceasta ar fi de 7,25%. Această valoare este mai mare decât cea înregistrată în anii 2011 (5,25%), 2013 (6,25%), 2014 (6,07%) și 2015 (6,82%) la toate seriile de curcani luate în studiu (din acest studiu au

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

fost excluși anii 2010 și 2016 care nu au fost ani întregi din punct de vedere al seriilor crescute care au fost luate în studiu). Totodată, valorile mortalității înregistrate sub valorile descrise de ghid s-au datorat și experienței acumulate de la serie la serie, ceea ce a dus la adoptarea celor mai bune decizii și, implicit la eficientizarea creșterii curcanilor și managerierea mult mai bună a perioadelor critice din perioada de creștere precum și la ajustarea tehnologiilor de creștere la specificul facilităților dar și al materialului genetic utilizat. Doar în anul 2012 rata mortalității a înregistrat o valoare record de 14,34% explicată în mare măsură prin nerespectarea condițiilor de bază în avicultură (principiul populării și al depopulării totale), forțat de condiții ce au ținut de sfera comercială ca urmare a unor supraestimări al domeniului de marketing în vânzări și au necesitat aplicarea de măsuri în condiții de urgență cu caracter temporar.

În cele ce urmează s-a efectuat o analiză a mortalității în funcție de materialul genetic utilizat, astfel că din cei șapte hibrizi utilizați la curci s-au înregistrat următoarele valori medii: BUT 6 (3,69% din 27 de serii), BUT 7 (2,38% din două serii), Converter (4,94% din 43 de serii), Grade Maker (5,97% din 18 serii), Nicholas 300 (11,54% din 2 serii), XL (12,97% din patru serii) și Aviagen (9,18% o singură serie). Pentru a oferi o imagine de ansamblu, s-au luat în studiu doar broilerii de curcă care au fost cei mai utilizați, iar rezultatele furnizate au arătat că valoarea mediană a indicelui de mortalitate a fost de 3,12% la BUT 6, 3,7% la Converter și de 4,53% la Grade Maker (fig. 5.17). Aceste valori ale mortalității se mențin în intervalul enunțat de ghidul de creștere al practicienilor veterinari din Germania (la BUT 6 și Converter), pe când la hibridul Grade Maker mortalitatea este doar cu 0,53% peste valoarea maximă enunțată în ghid.

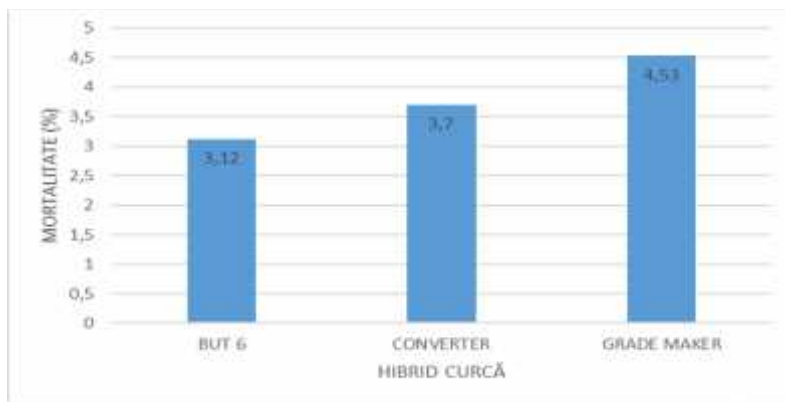


Fig.5.17. Valoarea mediană a mortalității înregistrată la cei mai utilizați hibrizi pe toată durata efectuării studiului (curci)

Fig.5.17. The mortality median recorded in most use hybrids during the study period (turkey hen)

La curcani materialul genetic a fost constituit din șase hibrizi care au înregistrat o valoare medie a ratei mortalității pe toată durata efectuării studiului după cum urmează: BUT 6 (7,85% din 29 de serii), BUT 7 (7,07% din patru serii), Converter (10,52% din 44 de serii), Grade Maker (8,96% din 16 serii), Nicholas 300 (19,05% din patru serii) și XL (20,12% din trei serii). Valorile mediane ale mortalității

înregistrate la hibridii cei mai utilizați în perioada 2010-2016 au fost de 8,08% la BUT 6, 9,04% la Converter și 7,81% la Grade Maker (fig.5.18). La curcani, în schimb dacă ar fi să comparăm cu valorile expuse în ghidul de creștere pe care l-am luat în considerare ca și valoare de referință (8-14% mortalitate) putem afirma că ne situăm la valoarea minimă a acestuia, ba chiar în cazul hibridului Grade Maker (7.81%) mortalitatea este sub valoare exprimată în ghid, ceea ce, pe lângă faptul că este foarte încurajator arată și experiența acumulată în această industrie precum și performanțele obținute în tehnologiile de creștere și în aplicarea strategiilor sanitare veterinare ce au dus la obținerea unor astfel de performanțe.

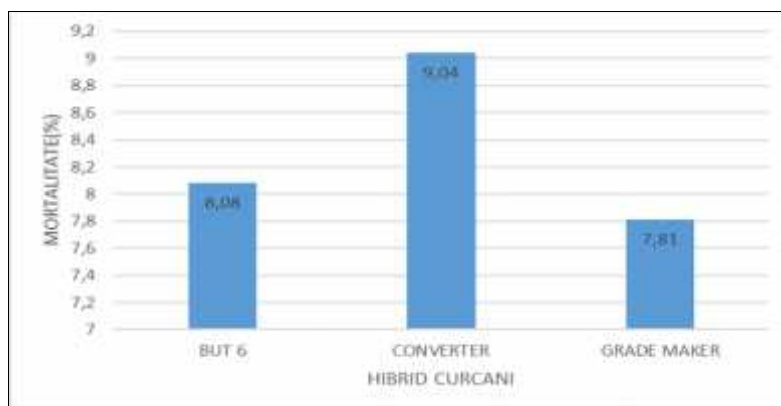


Fig.5.18. Valoarea mediană a mortalității înregistrată la cei mai utilizați hibridi pe toată durata efectuării studiului (curcani)

Fig.5.18. The mortality median recorded in most use hybrids during the study period (turkey)

Dacă ar fi să comparăm valoarea indicatorului epidemiologic mortalitate în funcție de numărul de broileri de curcă utilizați într-o serie se observă că mortalitatea a înregistrat valori foarte mari la seriile de colectură (8,09%), comparativ cu seriile în care materialul genetic a fost asigurat de un singur hibrid de curcă (3,67%) luat în studiu pe toată durata desfășurării cercetărilor (fig. 5.19).

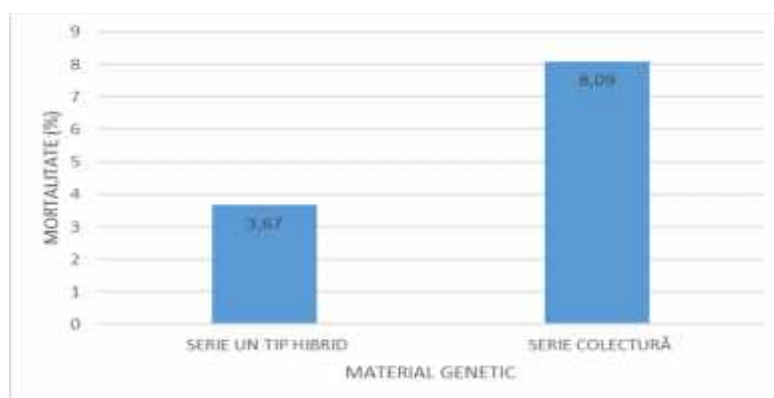


Fig.5.19. Mortalitatea în funcție de sursa de material genetic utilizat (curci)

Fig.5.19. Mortality according to the source of genetic material used (turkeys hen)

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Dacă se compară rata mortalității înregistrată la curcani pe toată perioada desfășurării experimentului în funcție de numărul de surse de material genetic utilizat se constată că aceasta este exponențial mai mare în cazul seriilor de colectură în care s-au utilizat mai mulți hibrizi (10,58%), comparativ cu seriile în care s-a utilizat un singur hibrid (8,69%) ca și sursă de material genetic (fig.5.20).

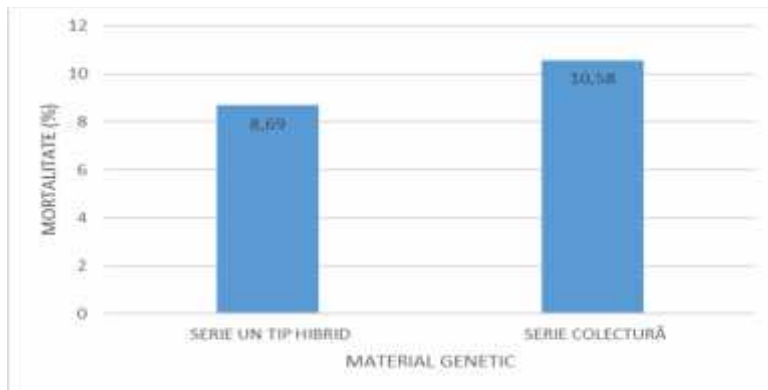


Fig.5.20. Mortalitatea în funcție de sursa de material genetic utilizat (curcani)
Fig.5.20. Mortality according to the source of genetic material used (turkeys)

În continuarea studiului epidemiologic, s-a recurs la o analiza a indicatorului mortalitate pe toată perioada desfășurării experimentului (2010-2016) pe sexe (valoarea medie anuală), pe toata perioada de creștere și îngrășare.

La curci rezultatele au arătat o prevalență crescută a mortalității, în special la populare, în primele două săptămâni de viață (fig. 5.21), situație argumentată prin stresul de transport și perioada foarte scurtă de acclimatizare la noul climat tehnologic, dublată de bagajul imunologic insuficient dezvoltat la această categorie de vârstă la broilerii de carne. Excepție de la această analiză face anul 2012 care a fost un an deosebit datorat materialului genetic de colectură, forțarea condițiilor tehnologice prin nerespectarea principiului populării și al depopulării totale ca o consecință a unor previziuni comerciale eronate dar și prelungirii foarte mult a perioadei de îngrășare.

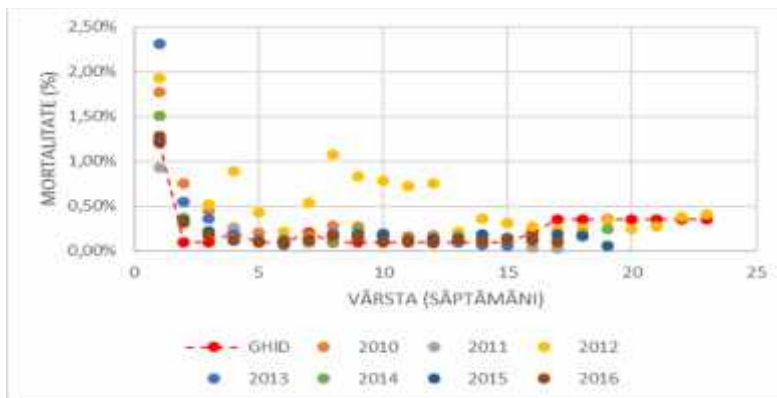


Fig.5.21. Prevalența mortalității în funcție de perioada de creștere la curci
Fig.5.21. The prevalence of mortality by period of growth in turkeys hens

La curcani prevalența mortalității pe parcursul unei serii de creștere și îngrășare a arătat un nivel foarte ridicat la populare, aproape dublu comparativ cu ghidul de creștere, după care acest indicator se menține la valori ce urmează tendința indicată în ghid (fig. 5.22), exceptând anul 2012 care a fost deosebit din punct de vedere epidemiologic datorat unui cumul de factori favorizanți tehnologico-comerciali.

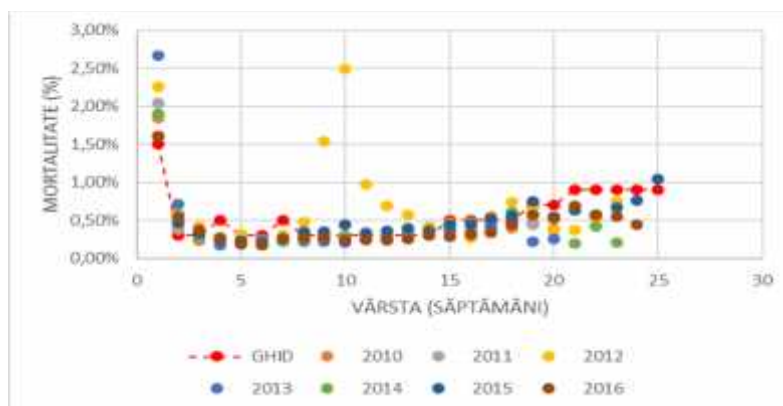


Fig.5.22. Prevalența mortalității în funcție de perioada de creștere la curcani

Fig.5.22. The prevalence of mortality by period of growth in turkeys

După cum se poate observa din figurile 5.20 și 5.21 mortalitatea a înregistrat valori medii mult peste ghidul de creștere al practicienilor veterinari germani care s-a utilizat ca și etalon în acest studiu, îndeosebi după populare. O explicație a acestui fenomen este stresul de transport acumulat, având în vedere că materialul genetic nu provine din România ci din străinătate de la distanțe relativ mari care necesită un timp îndelungat de transport. Pe lângă stresul generat de transportul până la fermele de creștere și îngrășare un alt factor favorizant care a dus la procente crescute de mortalitate după populare este și existența mai multor surse independente de material genetic deoarece nu s-a găsit un singur furnizor care să populeze toate fermele dintr-o serie de creștere, ceea ce a dus la popularea hanelor cu hibrizi "de colectură", caz în care fiecare își aduce aportul cu bagajul lui microbiologic caracteristic fermei de reproducție de unde provine, fenomen care a dus într-un final la creșterea atât a presiunii microbiologice cât mai ales a diversificării acesteia. La toate acestea se mai adaugă o altă caracteristică comună tuturor hibrizilor de pasăre crescute pentru carne și anume existența unui sistem imunitar incomplet dezvoltat, concentrarea maximă a geneticienilor ce au creat acești broilerii fiind pe creștere foarte rapidă și cu un spor maxim în detrimentul dezvoltării organismului având în vedere și durata de viață foarte scurtă până la valorificarea economică. În plus, curcanii sunt, comparativ cu alte specii de păsări ce se cresc în sistem intensiv, foarte sensibili la condițiile tehnologice de creștere și mai ales la agenții microbiologici iar perioada de exploatare zootehnică este mult mai lungă la această specie.

5.4. Concluzii parțiale

1. Acest studiu epidemiologic s-a efectuat în perioada 2010-2016 și a acoperit un număr de 82 de serii de creștere și îngrășare (8659750 de păsări din care 4265770 (49,26%) curci și 4393980 (50,76%) curcani) ce au fost crescute în șapte ferme avicole, materialul genetic fiind reprezentat de șapte hibrizi de curcă (BUT 6, BUT 7, Converter, Nicholas 300, Hybrid Grade Maker, Aviagen Premium și Hybrid XL) el fiind furnizat din șapte țări (Germania, Franța, Slovacia, Polonia, Ungaria, Austria și Marea Britanie), iar prevalența mortalității a fost de 7,61% la curci (valori extreme de 1,2% - 23,86%) și 9,71% (3,37%-35,13%);

2. Procentul cel mai crescut de mortalitate la curci și curcani a fost înregistrat în anul 2012 (14,34%), în timp ce mortalitatea cea mai redusă s-a înregistrat în anul 2011 (5,25%);

3. La curci, cea mai redusă valoare mediană a mortalității s-a înregistrat la hibridul BUT 6 (3,12%), în timp ce la curcani mortalitatea cea mai redusă s-a înregistrat la hibridul Grade Maker (7,81%);

4. În funcție de numărul hibrizilor ce au constituit o serie de creștere și îngrășare, mortalitatea înregistrată la curci a fost de 3,67% la un singur hibrid și de 8,09% la colectură, în timp ce la curcani mortalitatea la un singur hibrid a fost de 8,69% și de 10,59% la colectură;

5. În funcție de perioada de creștere și îngrășare, s-a evidențiat că perioada imediat după populare (primele 21 zile) constituie intervalul de vârstă cu cea mai crescută incidență a indicatorului epidemiologic mortalitate, indiferent de sex, tip de broiler sau țara de proveniență.

CAPITOLUL 6
INVESTIGAȚII CLINICE SI ANATOMOPATOLOGICE
PRIVIND INFECȚIILE RESPIRATORII DETERMINATE DE
RINOTRAHEITA INFECȚIOASĂ A CURCILOR (TRT) ȘI
INFECȚIILE CU *ORNITOBACTERIUM RINOTRACHEALE* (ORT)
LA CURCANI
CHAPTER 6
CLINICAL AND ANATOMOPATHOLOGICAL
INVESTIGATION CONCERNING RESPIRATORY INFECTIONS
TRIGGERED BY INFECTIOUS RHINOTRACHEITIS (TRT)
AND WITH *ORNITOBACTERIUM RINOTRACHEALE* (ORT) IN
TURKEYS

Atât rinotraheita curcilor (TRT) cât și infecțiile produse cu *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT) sunt două boli infecțioase ai căror agenți etiologici manifestă tropism în special pentru sistemul respirator și, de regulă, semnele clinice sunt asemănătoare cu alte maladii respiratorii. În majoritatea infecțiilor, dacă se merge până la izolare și identificare de agent etiologic se pot identifica mai mulți agenți etiologici deoarece după infecția primară, de regulă virală, apar și complicații secundare provocate de germenii din genul *Mycoplasma*, *Bordetella*, *Escherichia*, *Pasterella* etc. Din punct de vedere clinic bolile respiratorii luate în studiu sunt foarte greu de diferențiat, doar examenele de laborator putând pune un diagnostic de certitudine.

6.1. Scopul cercetărilor

În această etapă, scopul cercetărilor a fost acela de a identifica și evidenția semnele clinice cel mai des întâlnite la curcile și curcanii crescuți în sistem intensiv, provocate de infecțiile cu metapneumovirusul aviar, precum și de cele provocate de *Ornitobacterium rinotracheale*.

În același timp s-au evidențiat și leziunile anatomopatologice caracteristice acestor infecții care au fost puse în evidență la nivel macroscopic în urma examenului necropsic efectuat în ferma de creștere dar și la nivel microscopic prin realizarea de preparate histologice din leziunile constatate.

6.2. Materiale și metode

Investigațiile clinice s-au efectuat în cadrul fermelor ce aparțin grupului de firme BRAVCOD, care se află pe raza județelor Brașov și Mureș, unde se află și concentrația cea mai mare a crescătorilor de pui de curcă în sistem intensiv din România.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Materialul genetic utilizat a fost reprezentat de șapte hibrizi de curcă, după cum urmează: But 6, But 7, Hybrid Converter, Nicholas 300, Hybrid Grade Maker, Aviagen Premium și Hybrid XL. Aceștia au provenit de la furnizori din șapte țări și anume: Germania, Franța, Slovacia, Austria, Polonia, Ungaria și Marea Britanie.

Pentru evidențierea tabloului lezional s-a recurs la utilizarea examenului necropsic clasic care a fost efectuat zilnic, pe cadavre proaspete, iar pentru identificarea leziunilor s-au realizat preparate histologice.

6.3. Tablou clinic și anatomopatologic în rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT)

Metapneumovirusul aviar ce cauzează rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT) este responsabil de mari pierderi economice cauzate industriei avicole de profil peste tot în întreaga lume.

6.3.1. Tablou clinic în rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT)

Primele suspiciuni de boală au apărut în anul 2011 în cadrul fermei Dealul Frumos, la seria nr. 6, crescută în această fermă. Până la acea vreme, în cadrul acestei ferme s-au populat curcani din diverse surse, fără a fi probleme de sănătate ieșite din comun.

La seria 6 (populată în data de 17.11.2011) a fost pentru prima dată când au fost introduși în aceeași zi și în aceeași fermă, pui de curcă din două surse diferite: 3 hale (H1, H2, H3) au fost populate cu pui de curcă de o zi din Austria, iar următoarele 5 (H4, H5, H6, H7, H8) au fost populate cu pui de curcă de o zi din Franța. În jurul vârstei de 22-23 zile de viață (săptămâna 4), la primele 3 hale și anume: H1, H2 și H3, adică hale populate din Austria s-a înregistrat o creștere a procentului de mortalitate iar protocolul urmat în continuare a dus la stabilirea unui diagnostic prezumtiv de TRT care, mai apoi a fost confirmat de rezultatele testelor de laborator.

În halele de creștere și îngrășare s-au putut constata o serie de semne clinice caracteristice bolii respiratorii, reprezentate prin:

- lipsa mobilității (fig.6.1a și b);



Fig. 6.1. (a și b) Lipsa mobilității la curcani (original)
Fig. 6.1. (a and b) Lack of mobility in turkeys (original)

- stare febrilă;
- inapetență;
- puii de curcă afectați caută zonele cele mai încălzite ale halei de creștere (fig.6.2 a și b);



Fig. 6.2. Adunarea puilor de curcă în apropierea surselor de căldură (original)
Fig. 6.2. Turkey chicks are crowding near the heat sources (original)

- stare de prostrație cu aripile lăsate în jos (fig. 6.3);
- zgomote respiratorii (raluri umede);
- jetaj nazal;
- strănut;



Fig. 6.3. Stare de prostrație (original)
Fig. 6.3. Prostration (original)

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

- edem submandibular (fig.6.4);



Fig.6.4. Edem submandibular (original)
Fig. 6.4. Submandibular edema (original)

- edemul dur al capului (fig. 6.5 a și b)



a



b

Fig. 6.5.(a și b) Edemul dur al capului (original)
Fig. 6.5. (a and b) Hard edema of the head (original)

- sinuzită infraorbitară monolaterală (fig. 6.6 a și b);



a



b

Fig. 6.6. (a și b) Sinuzită infraorbitară monolaterală (original)

Fig. 6.6. (a and b) Monolateral infraorbital sinusitis (original)

- sinuzită infraorbitară bilaterală (fig. 6.7 a și b);



a



b

Fig. 6.7. (a și b) Sinuzită infraorbitară bilaterală (original)

Fig. 6.7. (a and b) Bilateral infraorbital sinusitis (original)

Pe lângă semnele clinice enumerate mai sus în unele episoade de boală diagnosticate ulterior ca fiind datorate infecțiilor cu metapneumovirusul aviar s-a mai observat și conjunctivită spumoasă (fig. 6.8), uneori însoțită și de sinuzită infraorbitară asociată cu secreții mucopurulente.



Fig. 6.8. Conjunctivă spumoasă (original)
Fig. 6.8. Foamy conjunctivitis (original)

Dacă nu se intervine foarte repede pentru a limita pierderile de efectiv puii de curcă ajung foarte repede la stări de agonie (fig.6.9), ceea ce poate determina o mortalitate crescută și pierderi însemnate.



Fig. 6.9. Stare de agonie (original)
Fig.6.9. Agony (original)

La curcanii adulți în vârstă de 20 de săptămâni s-a constatat apariția unei conjunctivite spumoase (fig.6.10 a și b), semnele clinice întâlnite la această vârstă fiind mai șterse comparativ cu tineretul de curcă la care boala evoluează mult mai agresiv.



a



b

Fig. 6.10. (a și b) Conjunctivită spumoasă (original)

Fig. 6.10. (a and b) Foamy conjunctivitis (original)

6.3.2. Tablou anatomopatologic în rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT)

Macroscopic, în urma efectuării examenului necropsic nu se constată leziuni patognomice în rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT). Cu toate acestea, leziunea cel mai des întâlnită în practica veterinară a fost edemațierea capului cu prezența de depozite serofibrinoase (fig.6.11) evidențiate după decalotarea pielii din regiunea capului.



Fig. 6.11. Depozite serofibrinoase la nivelul capului (original)

Fig. 6.11. Fibrin deposits at the head level (original)

O altă leziune ce a fost întâlnită frecvent a fost reprezentată de poliserozita fibrinoasă (fig. 6.12) foarte evidentă atunci când s-a complicat bacterian cu *Escherichia coli*.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv



Fig.6.12. Poliserozita fibrinoasă (original)

Fig.6.12. Fibrinous polyserositis (original)

Microscopic, prin utilizarea microscopiei fotonice se pot observa leziuni la nivelul epiteliului traheal care sunt tranzitorii manifestate prin infiltrații din sfera limfoidă (fig.6.13).

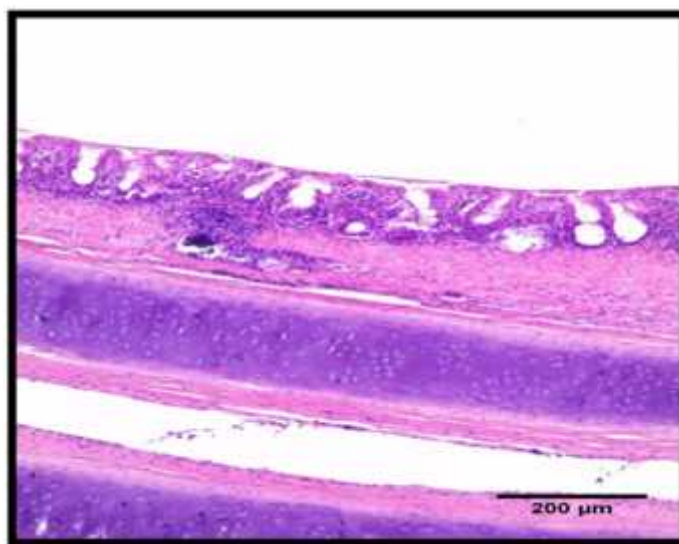


Fig.6.13. Infiltrația celulelor limfoide din epiteliul traheal (HEA X 200)

Fig.6.13. infiltration of lymphoid cells in the epithelium of trachea (HEA X 200)

6.4. Tablou clinic și anatomopatologic în infecțiile cu *Ornithobacterium rinotracheale* (ORT)

Ornithobacterium rhinotracheale este o bacterie relativ nou descoperită, care e tot mai des asociată în bolile respiratorii la păsări din tot segmentul avicol. Prezența infecției la păsările crescute în sistem industrial și la cele sălbatice demonstrează că agentul infecțios este răspândit în toate colțurile lumii.

6.4.1. Tablou clinic în infecțiile cu *ornitobacterium rinotracheale* (ORT)

La curcanii de peste 12 săptămâni sau mai mult, *O. rhinotracheale* poate provoca o pneumonie acută cu mortalitate mare, în timp ce alte ori poate evolua doar cu dureri articulare.

Această infecție bacteriană evoluează clinic asemănător cu alte infecții respiratorii, nefiind identificate în patologia practică veterinară semne clinice caracteristice.

Astfel, semnele clinice sunt reprezentate de:

- la început apare o tuse uscată și persistentă (fig.6.14)



Fig.6.14. Tuse uscată în diferite faze (original)

Fig.6.14. Dry cough in different phases (original)

- tuse umedă care poate fi cu expectorații chiar și sangvinolente în cazuri supraacute datorită congestiei puternice de la nivelul tractusului respirator (fig.6.15);



Fig.6.15. Tuse umedă cu expectorații (original)

Fig.6.15. Cough damp with expectorants (original)

- strănut;

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

- inapetență;
- stare de prostrație (fig.6.16);



Fig.6.16. Stare de prostrație (original)

Fig.6.16. Prostration (original)

- respirație bucală (fig.6.17);



Fig.6.17. Respirație bucală (original)

Fig.6.17. Mouth breathing (original)

- în forma de evoluție supraacută apare insuficiență respiratorie acută, cadavrele fiind găsite cu ciocul deschis (fig. 6.18);



Fig.6.18. Evoluție supraacută (original)

Fig.6.18. Superacute evolution (original)

În plus, pe lângă semnele clinice caracteristice infecțiilor tractusului respirator mai pot apărea și șchiopături din cauza durerilor articulare cauzate de localizarea bacteriei *O. Rinotracheale* (fig.6.19).



Fig.6.19. Dureri articulare (original)

Fig.6.19. Joint pain (original)

6.4.2. Tablou anatomopatologic în infecțiile cu *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT)

În ceea ce privește tabloul morfopatologic, în urma necropsiei, leziunile anatomopatologice identificate nu sunt patognomonice, ele fiind de cele mai multe ori complicate cu bacterii din genurile *Escherichia*, *Proteus* sau *Pseudomonas*.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Cu toate acestea se pot enumera câteva leziuni care sunt cele mai des întâlnite cum ar fi:

- pneumonie fibrinoasă monolaterală (fig.6.20);



Fig.6.20. Pneumonie fibrinoasă monolaterală (original)

Fig.6.20. Monolateral fibrinous pneumonia (original)



- pneumonie fibrinoasă bilaterală (fig.6.21);

Fig.6.21. Pneumonie fibrinoasă bilaterală (original)

Fig.6.21. Bilateral fibrinous pneumonia (original)

- aerosaculită spumoasă în sacii aerieni abdominali (fig.6.22);



Fig.6.22. Aerosaculită spumoasă(original)

Fig.6.22. Sparkling airsacculitis (original)

- periartită fibrinoasă (fig.6.23);



Fig.6.23. Periartrită fibrinoasă (original)

Fig.6.23. Fibrinous periartthritis (original)

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

- Periartrită hemoragico-necrotică ce evoluează cu ruptura tendonului



gastrocnemian (fig.6.24).

Fig.6.24. Ruptura tendonului gastrocnemian (original)

Fig.6.24. Gastrocnemian tendon rupture (original)

Microscopic, pulmonii sunt cei mai afectați și se observă și o infiltrare interstițială difuză și pronunțată cu macrofage (fig.6.25).

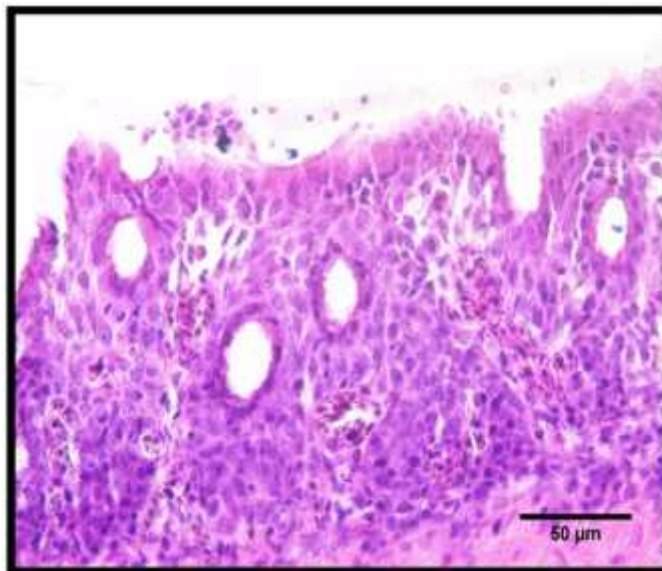


Fig.6.25. Infiltrație macrofagică interstițială difuză în pulmon (HEA X 60)

Fig.6.25. Interstitial macrophage infiltration diffused into the lung (HEA X 60)

6.5. Concluzii parțiale

1. Bolile respiratorii produc pierderi economice însemnate atât prin mortalitate cât și prin nerealizarea parametrilor tehnicoproductivi;

2. Bolile respiratorii la curcanii crescuți în sistemul industrial sunt greu de diferențiat doar pe baza semnelor clinice necesitând investigații de laborator pentru certitudine;

3. Tabloul anatomopatologic a identificat leziuni macroscopice comune rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) sau infecției cu *Ornitobacterium rinotracheale* care se întâlnesc frecvent în sindromul infecțios respirator;

4. Cu toate că atât semnele clinice, cât și tabloul lezional nu prezintă elemente specifice bolilor luate în studiu, rezultatele furnizate de acestea pot orienta protocolul de diagnostic în continuare.

CAPITOLUL 7
IMPLEMENTAREA UNEI METODOLOGII DE PROFILAXIE
SPECIFICĂ CU PRIVIRE LA INFECȚIILE RESPIRATORII
DETERMINATE DE TRT ȘI ORT LA CURCANI
CHAPTER 7
IMPLEMENTATION OF A SPECIFIC PROPHYLAXIS
METHODOLOGY REGARDING THE RESPIRATORY
INFECTIONS CAUSED BY TRT AND ORT IN TURKEYS

Pentru sectorul avicol de creștere și îngrășare al curcanilor atât rinotraheita infecțioasă a curcilor (TRT) cât și infecțiile cu *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) au o importanță deosebită prin pierderile economice însemnate pe care le provoacă acestei industrii.

7.1. Scopul cercetărilor

Scopul cercetărilor întreprinse a fost acela de a implementa cea mai eficientă metodologie prin care să fie instaurat protocolul complet și complex de profilaxie specifică în ceea ce privește infecțiile respiratorii în care sunt implicați TRT și ORT.

Pentru evaluarea eficacității măsurilor implementate s-a efectuat și o analiză calitativă prospectivă utilizând metode serologice, bacteriologice și genetice cele mai potrivite unor astfel de cercetări.

7.1. Materiale și metode

În scopul realizării cercetărilor propuse s-au utilizat rezultatele furnizate la tehnica ELISA, metoda indirectă, tehnica MALDI TOF pentru identificarea ORT în principal, real time PCR pentru identificarea și cuantificarea TRT, precum și secvențierea TRT pentru o încadrare cât mai exactă a subtipurilor identificate în cele șapte ferme participante la studiu în perioada 2010-2016.

7.1.1. Test de detectare a anticorpilor pentru Metapneumovirusul aviar la pui și curcani Avian Rinotracheitis Antibody Test Kit (Bio Check)

Principiul testului

Acest kit ELISA va detecta și cuantifica nivelul anticorpilor pentru virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor din serul puilor și al curcanilor. Plăcile de microtitrare și probele de ser vor fi diluate în prealabil, după care se vor adăuga în godeurile plăcilor iar anticorpul TRT se vor lega de antigenul existent și se vor forma complexe anticorp-antigen specifice. Prin spălare se vor îndepărta toți anticorpulii

nespecifici și alte proteine serice. Se va adăga în godeurile plăcilor de microtitrare Ig G anti-pui marcată cu fosfatază alcalină care se va lega de toate complexe de deja formate, apoi se va îndepărta prin spălare conjugatul rămas liber și se va adăga soluția substrat reprezentată de Pnpp cromogen. Astfel se va dezvolta o reacție de culoare în galben a cărei intensitate va fi direct proporțională cu cantitatea de anticorpi specifici anti-TRT din proba de analizat.

Reagenți:

1. Plăci de microtitrare (5 x 96 godeuri) tratate cu antigenul viral TRT;
2. Conjugatul oăie anti-pui: fosfatază alcalină în tampon Tris cu stabilizatori de proteină, colorant roșu inert, iar ca și conservant azida de sodiu 0,1%;
3. Comprimate substrat reprezentate de pNPP (p-nitrofenil fosfat) pentru a se dizolva împreună cu tamponul substrat;
4. Tampon substrat: tampon dietanolamină cu co-factori a enzimei;
5. Soluție de stopare: hidroxid de sodiu în tampon dietanolamină;
6. Diluant: tampon fosfat cu stabilizatori proteici și conservant azidă de sodiu 0,1%;
7. Tampon de spălare: pulbere de soluție salină tamponată cu fosfat Tween;
8. Control Negativ: ser specific fără microorganisme patogene în tampon fosfat cu stabilizatori de proteină și conservant azidă de sodiu 0,1%;
9. Control Pozitiv: anticorpi specifici TRT în tampon fosfat cu stabilizatori de proteină și conservant azidă de sodiu 0,1%.

Materiale și echipamente necesare (nefurnizate de kit):

- Pipete de precizie și vârfuri de unică folosință;
- Pipete multicanal cu 8 sau 12 canale;
- Tuburi din plastic pentru diluarea probei;
- Apă distilată sau deionizată;
- Microtitru cititor de placă cu filtru de 405 nm;
- Mașină de spălat placa de microtitrare.

Prepararea reagenților

1. Substratul reactiv: pentru a prepara soluția substrat se adaugă 1 comprimat la 5,5 ml de tampon de substrat și se amestecă timp de 3 minute până la dizolvare completă. Reactivul trebuie preparat în ziua utilizării, însă acesta va rămâne stabil timp de o săptămână dacă este păstrat la întuneric și la 4°C;
2. Tamponul de spălare: se golește conținutul unui plic de tampon de spălare într-un litru de apă distilată sau deionizată și se lasă să se dizolve complet prin amestecare. Tamponul de spălare va rămâne stabil și se poate utiliza timp de o lună dacă acesta este păstrat la 4°C;
3. Toate celelalte componente ale kitului sunt gata de utilizare, dar se lasă să ajungă la temperatura camerei (20-27°C) înainte de utilizare.

Pregătirea probelor

Se diluează fiecare eșantion de testare 1:500 prin adăugarea a 1 μ l volum de

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

probă în 500 µl de diluant, se va utiliza câte un vârf de pipetă pentru fiecare probă ce urmează a fi analizată și se va identifica clar tubul;

Controlul pozitiv și Controlul Negativ nu necesită diluare și se vor utiliza ca atare.

Protocol de lucru

- se îndepărtează sigiliul și folia protectoare de pe placă;
- se adaugă 100 µl Control Negativ în godeurile A1 și B1;
- se adaugă 100 µl de Control Pozitiv în godeurile C1 și D1;
- se adaugă 100 µl de probe diluate în godeurile corespunzătoare. Se acoperă placa cu capac și se incubează la temperatura camerei timp de 60 minute;
- conținutul din godeuri se aspiră și se spală de patru ori cu Soluția de spălare (300 µl/godeu), apoi se aruncă soluția și se usucă placa;
- se adaugă 100 µl de reactiv Conjugat în godeurile corespunzătoare, se acoperă placa și se incubează la temperatura camerei timp de 60 minute;
- se repetă pasul 5;
- se adaugă 100 µl de reactiv substrat în godeurile corespunzătoare, se acopera placa cu capac și se incubează la temperatura camerei timp de 60 minute;
- se adaugă 100 µl de Soluție STOP în godeurile adecvate;
- placa se introduce în cititorul de plăci și se înregistrează valoarea absorbanței optice la 405 nm atât a Controalelor cât și a probelor de analizat.

Validarea rezultatelor

Pentru ca rezultatul testului să fie validat trebuie ca media valorii absorbantei optice a Controlului Negativ să aibă valori mai mici de 0,3 iar diferența dintre media Controlului Negativ și cea a Controlului Pozitiv să fie mai mare de 0,15. Variația temperaturii din laborator va duce la obținerea de valori mai mici sau mai mari de absorbție dar valorile probelor vor fi în continuare valabile dacă se vor raporta corect la valorile Controalelor.

Controlul pozitiv TRT a fost standardizat cu atenție pentru a reprezenta cantități semnificative de anticorpi TRT din serul puilor și al curcanilor.

Pentru a putea calcula cantitățile relative de anticorpi din probele de pui se va relaționa direct la un Control Pozitiv. Această relaționare este exprimată sub forma unui raport Sample (S)/Positive (P).

Interpretarea rezultatelor

Probele care au o valoare S/P ≥ 5 sunt considerate pozitive

Calcularea S/P = Media probei de analizat-Media Controlului negativ/Media Controlului Pozitiv-Media Controlului Negativ

Calcularea titrului de anticorpi: $\log_{10} = 1,0(\log_{10} S/P)+3,52$

Tabelul 7.1/Table 7.1

Interpretarea rezultatelor la ELISA TRT **Interpretation of the results using ELISA TRT test kit**

Valoare S/P	Titru	Status
$\leq 0,349$	≤ 1158	Negativ
0,350-0,499	1159-1655	Suspect
$\geq 0,500$	≥ 1655	Pozitiv

7.1.2. Test de detectare a anticorpilor pentru *Ornitobacterium rinotracheale* la pui și curcani *Ornithobacterium rhinotracheale* Antibody Test Kit (Bio Check)

Principiul testului

Acest kit ELISA va măsura cantitatea de anticorpi pentru *O. rinotracheale* în serul puilor și curcanilor. Plăcile de microtitrare sunt deja tratate cu antigen inactivat anti-ORT iar anticorpii prezenți în probele de ser se vor lega specific formând complexe imune specifice, excesul de anticorpi, precum și proteinele serice vor fi îndepărtate prin spălare. Ig G anti-pui marcată cu fosfatază alcalină se adaugă în godeuri și se va lega de orice anticorp anti-ORT legat inițial la antigen după care excesul se îndepărtează prin spălare și se adaugă substratul sub formă de pNPP cromogen care va duce la virarea în culoarea galben dacă reacția este una pozitivă. Intensitatea culorii este direct proporțională cu cantitatea de anticorpi specifici prezentă în proba analizată.

Reagenți:

- 1 Plăci de microtitrare (5 x 96 godeuri) tratate cu antigenul bacterian ORT (*Ornitobacterium rinotracheale*);
- 2 Conjugatul oaie anti-pui: fosfatază alcalină în tampon Tris cu stabilizatori de proteină, colorant roșu inert, iar ca și conservant azidă de sodiu 0,1%;
- 3 Comprimate substrat reprezentate de pNPP (p-nitrofenil fosfat) pentru a se dizolva împreună cu tamponul substrat;
- 4 Tampon substrat: tampon dietanolamină cu co-factori a enzimei;
- 5 Soluție de stopare: hidroxid de sodiu în tampon dietanolamină;
- 6 Diluant: tampon fosfat cu stabilizatori proteici și conservant azidă de sodiu 0,1%;
- 7 Tampon de spălare: pulbere de soluție salină tamponată cu fosfat Tween;
- 8 Control Negativ: ser specific fără microorganisme patogene în tampon fosfat cu stabilizatori de proteină și conservant azidă de sodiu 0,1%;
- 9 Control Pozitiv: anticorpi specifici OR în tampon fosfat cu stabilizatori de proteină și conservant azidă de sodiu 0,1%.

Materiale și echipamente necesare (nefurnizate de kit)

- Pipete de precizie și vârfuri de unică folosință;
- Pipete multicanal cu 8 sau 12 canale;
- Tuburi din plastic pentru diluarea probei;
- Apă distilată sau deionizată;
- Microtitru cititor de placă cu filtru de 405 nm;
- Mașină de spălat placa de microtitrare.

Prepararea reagenților

1. Substratul reactiv: se adaugă 1 comprimat la 5,5 ml de tampon de substrat și se amestecă timp de 3 minute până când se dizolvă complet. Prepararea acestuia se va face înainte de utilizare dar el se va menține stabil timp de o săptămână dacă va fi menținut la întuneric și la 4°C;

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

2. Tamponul de spălare: se golește conținutul unui plic de tampon de spălare într-un litru de apă distilată sau deionizată și se amestecă până la dizolvarea completă, acesta va rămâne stabil pentru utilizare timp de o lună dacă va fi păstrat la 4°C;
3. Toate celelalte componente din kit sunt gata de utilizare, dar se lasă să ajungă la temperatura camerei înainte de utilizare.

Pregătirea probelor

Se diluează fiecare eșantion de testare 1:100 prin adăugarea a 5 μl în 500 μl diluant, se va folosi câte un vârf de pipetă pentru fiecare volum de probă iar Controlul Pozitiv cât și Controlul Negativ nu necesită diluție.

Protocol de lucru

- placa se desigilează și se individualizează;
- se adaugă 100 μl de Control Negativ în godeurile A1 și B1;
- se adaugă 100 μl de Control Pozitiv în godeurile C1 și D1;
- se adaugă 100 μl de probe diluate în godeurile corespunzătoare, se acoperă placa cu capac și se incubează la temperatura camerei timp de 60 minute;
- conținutul din godeuri se aspiră și se spală de 4 ori cu tampon de spălare (300 μl.godeu), după care se aruncă și se usucă placa;
- se adaugă 100 μl de reactiv Conjugat în godeurile corespunzătoare, placa se acoperă cu capac și se incubează timp de 60 minute la temperatura camerei;
- se repetă procedura de spălare;
- se adaugă 100 μl de reactiv substrat în godeurile corespunzătoare, se acoperă placa cu capac și se incubează 30 minute la temperatura camerei;
- se adaugă 100 μl de Soluție STOP în godeurile adecvate pentru oprirea reacției;
- placa de microtitrare se citește la o absorbanță optică de 405 nm.

Validarea rezultatelor

Pentru ca rezultatul testului să fie validat trebuie ca valoarea medie a absorbanței optice a Controlului Negativ să fie <0,3 iar diferența dintre media Controlului Negativ și a Controlului Pozitiv ar trebui să fie >0,15. Variații ale temperaturii din laborator pot duce la obținerea de valori mai mici sau mai mari, dar dacă se va menține raportul cu valorile de control atunci testul va fi valid.

Controlul pozitiv OR a fost standardizat cu atenție pentru a reprezenta cantități semnificative de anticorpi OR din serul puilor și al curcanilor.

Pentru a putea calcula cantitățile relative de anticorpi din probele de pui se va relaționa direct la un Control Pozitiv. Această relaționare este exprimată sub forma unui raport Sample (S)/Positive (P).

Interpretarea rezultatelor

Probele care au o valoare S/P ≥ 1 sunt considerate pozitive

Calcularea S/P = Media probei de analizat-Media Controlului negativ/Media Controlului Pozitiv-Media Controlului Negativ

Calcularea titrului de anticorpi: $\text{Log } 10 = 1,75(\log_{10} \text{ S/P})+3,156$

Interpretarea rezultatelor la ELISA *Ornitobacterium rinotracheale*
Interpretation of the results using ELISA *Ornitobacterium rinotracheale* test kit

Valoare S/P	Titru	Status	
≤0,499	≤424	Negativ	
0,500-0,999	425-1431	Suspect	
≥1	≥1432	Pozitiv	

7.1.3. Kit ELISA Avian Pneumovirus Antibody APV (Idexx Laboratories)

Principiul testului

Testul măsoară nivelul de anticorpi anti-TRT la pui și curcan. Plăcile sunt fixate cu antigenul viral TRT. După incubarea plăcilor în care s-au adăugat probele de analizat se vor forma complexe imune specifice, iar după îndepărtarea resturilor de anticorpi și a proteinelor serice nespecifice prin spălare se va adăuga conjugatul care va adera la complexe imune formate. Surplusul de conjugat este îndepărtat prin spălare și se adaugă enzima substrat după care apare o reacție de culoare a cărei intensitate este proporțională cu concentrația de complexe imune specifice nou formate.

Reagenți

Tabelul 7.3/Table 7.3

Reagenți utilizați Reagents

Nr. Crt.	Reagent	Cantitate
1	Plăci pretratate cu antigen TRT	5
2	Control Pozitiv	1x1,9 ml
3	Control Negativ	1x1,9 ml
4	Conjugat	1x50 ml
5	Probă diluant	1x235 ml
6	Substrat TMB	1X60 ML
7	Soluția STOP	1X60 ml

Materiale necesare care nu sunt livrate în kit:

- Micropipete multicanal;
- Vârfuri de pipete de unică folosință;
- Cititor de plăci de 96 de godeuri la o absorbantă optică de 650 nm;
- Spălător de plăci;
- Apă distilată sau deionizată necesară pentru reconstituirea reagenților;
- Folie adezivă sau de aluminiu, vortex și tuburi pentru diluție.

Protocol de lucru

1. Desigilarea plăcilor și individualizarea acestora;
2. Se adaugă câte 100 µl de Control Negativ în godeurile A1 și B1;
3. Se adaugă câte 100 µl de Control Negativ în godeurile C1 și D1;
4. Se adaugă câte 100 µl de eșantion de probă în fiecare godeu;
5. Se incubează placa timp de 30 minute la temperatura camerei;
6. Se îndepărtează soluția și se spală de 3-5 ori cu aproximativ 350 µl apă distilată sau deionizată;

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

7. Se adaugă câte 100 μ l Conjugat în fiecare godeu;
8. Se incubează placa timp de 30 minute la temperatura camerei;
9. Se repetă pasul 6;
10. Se adaugă câte 100 μ l substrat TMB în fiecare godeu;
11. Se incubează placa timp de 15 minute la temperatura camerei;
12. Se adaugă câte 100 μ l Soluție STOP în fiecare godeu;
13. Se măsoară valoare absorbantei optice la 850 nm.

Interpretarea rezultatelor

Pentru validarea Controlului Pozitiv și a celui Negativ se va calcula valoarea medie aceluia duplicat.

Criterii de validare al testului: Control Pozitiv-Control Negativ $\geq 0,075$, iar Control Negativ $\leq 0,150$

Calcularea titrului:
$$S/P = \frac{\text{Media Probei} - \text{Control Negativ}}{\text{Control Pozitiv} - \text{Control Negativ}}$$

adică:

$$\text{Log}_{10} = 1,09(\log_{10} S/P) + 3,36$$

Dacă $S/P \leq 0,20$, atunci rezultatul este negativ, în timp ce dacă $S/P \geq 0,20$ atunci rezultatul este pozitiv.

7.1.4. ELISA *Ornitobacterium rinotracheale* Antibody test kit (Idexx ORT)

Principiul testului

Microplăcile cu 96 de godeuri sunt căptușite cu antigen bacterian ORT. După distribuirea probelor în godeuri și incubarea plăcilor se vor forma complexe antigen-anticorp specifice. După îndepărtarea prin spălare a excedentului imunologic și a diferitelor proteine serice nespecifice se adaugă Conjugatul care se va lega de complexe imune deja formate. Excedentul de conjugat este îndepărtat prin spălare și se adaugă enzima substrat care va determina virarea culorii pe placă a cărei intensități este direct proporțională cu cantitatea de anticorpi anti-ORT prezentă în proba de analizat.

Reagenți:

Tabelul 7.4/Table 7.4

Reagenți utilizați

Reagents

Nr. Crt.	Reagent	Cantitate
1	Plăci pretratate cu antigen TRT	5
2	Control Pozitiv	1x1,9 ml
3	Control Negativ	1x1,9 ml
4	Conjugat	1x50 ml
5	Probă diluant	1x235 ml
6	Substrat TMB	1X60 ML
7	Soluția STOP	1X60 ml

Materiale necesare care nu sunt livrate în kit:

- Micropipete multicanal;

- Vârfuri de pipete de unică folosință;
- Cititor de plăci de 96 de godeuri la o absorbantă optică de 650 nm;
- Spălător de plăci;
- Apă distilată sau deionizată necesară pentru reconstituirea reagenților;
- Folie adezivă sau de aluminiu, vortex și tuburi pentru diluție.

Protocol de lucru

1. Desigilarea plăcilor și individualizarea acestora;
2. Se adaugă câte 100 μ l de Control Negativ în godeurile A1 și B1;
3. Se adaugă câte 100 μ l de Control Negativ în godeurile C1 și D1;
4. Se adaugă câte 100 μ l de eșantion de probă în fiecare godeu;
5. Se incubează placa timp de 30 minute la 18-26°C;
6. Se îndepărtează soluția și se spală de 3-5 ori cu aproximativ 350 μ l apă distilată sau deionizată;
7. Se adaugă câte 100 μ l Conjugat în fiecare godeu;
8. Se incubează placa timp de 30 minute la 18-26°C;
9. Se repetă pasul 6;
10. Se adaugă câte 100 μ l substrat TMB în fiecare godeu;
11. Se incubează placa timp de 15 minute la 18-26°C;
12. Se adaugă câte 100 μ l Soluție STOP în fiecare godeu;
13. Se măsoară valoare absorbantă optice la 650 nm.

Interpretarea rezultatelor

Pentru calcularea Controlului Negativ și a Controlului Pozitiv se calculează media aritmetică obținută la fiecare probă duplicat.

Criterii de validare al testului: Control Pozitiv-Control Negativ $\geq 0,075$, iar Control Negativ $\leq 0,150$

Calcularea titrului: :
$$\frac{S/P = \text{Media Probei} - \text{Control Negativ}}{\text{Control Pozitiv} - \text{Control Negativ}}$$

adică:

$$\text{Log}_{10} = 1,09(\log_{10} S/P) + 3,36$$

Dacă $S/P \leq 0,40$, atunci rezultatul este negativ, în timp ce dacă $S/P \geq 0,40$ atunci rezultatul este pozitiv.

7.1.5. Kit RT-PCR pentru detecția Metapneumovirusului aviary LSI VetMAX™ (Life technologies)

Acest kit reprezintă o metodă de diagnostic molecular pentru detecția virusului rinotraheitei infecțioase aviare (TRT), tulpinile A, B și C și utilizează tehnologia Real Time-PCR (ARN) și se utilizează la păsări utilizând ca și materii prime puluri de probe alcătuite din 4-10 tampoane traheale sau probe individuale de pulmoni sau/și trahee. Fiecare probă de ARN după extracție este analizată în duplicat: o probă este analizată pentru detecția specifică a ARN viral TRT, tulpinile A și B iar a doua probă este analizată pentru detecția ARN viral TRT tulpina C și a IPC (Control Intern Pozitiv) care reflectă eficacitatea extracției și absența inhibitorilor în proba de analizat.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Conținutul kitului și condițiile de păstrare

După achiziționare reagenții kitului de detecție se păstrează la -30 - -10°C.

Tabelul 7.5/Table 7.5

Reagenți și condiții de păstrare
Kit contents and storage

Componentă	Descriere	Volume (50 reacții)	Păstrare după recepție	Păstrare după utilizare inițială
1a-Secvența APV A/B	TaqMan FAM-TAMRA (serotip A) TaqMan VIC-TAMRA (serotip B)	100μl	-30°C - -10°C	-30°C - -10°C
1b- Master Mix APV	Buffer și enzima RT-PCR	2x625μl	-30°C - -10°C	2°C - 8°C
2b-Enzimă APV	Revers transcriptază pentru TaqMan RT-PCR	25μl	-30°C - -10°C	-30°C - -10°C
4a- EPC APV A/B/C	Controlul Pozitiv Extern pentru Metapneumovirusul serotipurile A, B și C	180μl	-30°C - -10°C	-30°C - -10°C

Martori de extracție și amplificare

Martorul de validare al amplificării virale este reprezentat de 4a-EPC APV A/B/C care este deja extras iar un rezultat pozitiv cuprins în intervalul acceptat de Controlul Pozitiv permite validarea rezultatului testului.

Validarea extracției de acizi nucleici din fiecare eșantion de probă se realizează prin intermediul unui Control Pozitiv Intern (IPC) prezent în fiecare eșantion, iar un rezultat IPC pozitiv ce are o valoare conformă permite validarea extracției probei care poate fi pozitivă sau negativă pentru agentul patogen cercetat. Este recomandat să se realizeze două controale negative pentru a valida metoda de analiză: un control negativ pentru extracție și un control negativ de amplificare.

Materiale și reactivi necesari dar care nu sunt furnizați de kit:

- Micropipete de precizie (1-1000μl) cu filtre free ADN-ază/ARN-ază;
- apă free ADN-ază/ARN-ază;
- tampon TE 1X;
- Tampon PBS 1X;
- Termocycler pentru RT-PCR capabil să detecteze următorii fluorescenți:
 - FAM (515 nm);
 - VIC (554 NM);
- Consumabile corespunzătoare termocyclerului utilizat: plăci PCR 96 godeuri, capilare sau microtuburi, hârtie de film sau capace mate.

Protocol de lucru

Volumul total ce va fi utilizat în reacție: 25μl din care:

- 20μl mix APV A/B și mix APV C/IPC care va fi reconstituit înainte de RT-PCR;
- 5μl extract ARN din fiecare probă de analizat.

Extracția ARN-ului viral s-a efectuat utilizând metoda propusă de Macherey-Nagel.

Reconstituirea mixului de reacție

Se vor reconstitui mixurile APV A/B și APV C/IPC chiar înainte de desfășurarea reacției urmând următoarele etape:

- Înainte de prima utilizare se va decongela mixul 2a-Master Mix APV la 2-8°C, pe gheață sau utilizând suport refrigerant, după care acesta se va conserva 2-8°C pentru utilizările ulterioare;
- La temperatura camerei se va decongela secvențele 1a-APV A/B și APV C/IPC, iar după utilizare se vor păstra la -10- -30°C;
- Înainte de reacție se va decongela pe gheață sau substrant refrigerant componenta 2b-Enzima APV, iar după utilizare se va conserva rapid la -10- -30°C;
- La temperaturi de 2-8°C se vor constitui mixurile APV A/B și Mix C/IPC, conform calculelor din tabelul 7.6. după care se va executa în cel mai scurt timp RT-PCR.

Tabelul 7.6/Table 7.6

**Calcul Mix APV RT-PCR
Mix APV RT-PCR preparations**

Component	Mix APV A/B		Mix APV C/IPC	
	1 reacție	n reacții	1 reacție	n reacții
1a-APV A/B	2 µl	N x 2 µl	-	-
1b-APV C/IPC	-	-	2 µl	N X 2 µl
2a-Master Mix APV	12,5 µl	N x 12,5 µl	12,5 µl	N x12,5 µl
2b-Enzimă APV	0,25 µl	N x 0,25 µl	0,25 µl	N x 0,25 µl
Apă ADN/ARN free	5,25 µl	N x 5,25 µl	5,25 µl	N x 5,25 µl
Volum total	20 µl	N x 20 µl	20 µl	N x 20 µl

Pregătirea RT-PCR:

- Se va executa un plan de analiză pentru distribuția mixului și a eșantioanelor de analizat pe placă;
- Se vor omogeniza mixurile APV A/B și APV C/IPC prin vortexare scurtă;
- Pentru fiecare probă de analizat se va:
 - distribui câte 20 µl APV A/B în fiecare godeu al microplăcii;
 - distribui câte 20 µl APV C/IPC în fiecare godeu al microplăcii.
- se va adăuga proba de ARN de analizat în fiecare godeu după modelul descris în tabelul 7.7. după care placa se va sigila cu film sau cu un capac adecvat

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Tabelul 7.7/ Table 7.7

**Protocol RT-PCR APV
RT-PCR APV Protocole**

Tipul analizei	Component	Volum
Probă de analizat	ARN izolat	5 µl
Control Pozitiv de Amplificare	4a-EPC APV A/B/C	5 µl
Control Negativ de Extracție	Control Negativ de Extracție	5 µl
Control Negativ de Amplificare	Apă ADN/ARN free	5 µl

Amplificarea prin real time PCR

Fluoroforii utilizați în această reacție au fost după cum urmează: Martor Pozitiv ROX, APV A – FAM și TAMRA, APV B – VIC și TAMRA, APV C – FAM și TAMRA iar pentru APV IPC – VIC și TAMRA.

Programul ciclurilor de amplificare în timp real este reprezentat în tabelul 7.8., iar după introducerea acestuia se pornește termocyclerul pentru efectuarea reacțiilor și obținerea rezultatelor din probele cercetate.

Tabelul 7.8/Table 7.8

**Program RT-PCR
RT-PCR Programe**

Etapa	Nr. repetiții	Temperatura (°C)	Timp
1	x 1	48°C	15 minute
2	x 1	95°C	1 minut
3	x 45	95°C	15 secunde
		60°C	1 minut

Pentru fiecare eșantion de probă supuse analizei prin RT-PCR interpretarea rezultatelor este prezentată în tabelul 7.9 .

Tabelul 7.9/Table 7.9

**Interpretarea rezultatelor
Interpretation of the results**

Deteția APV A	Deteția APV B	Deteția APV C	Deteția APV IPC	Interpretare
Ct ≤ 45	-	-	Ct ≤ 45 sau Ct ≤ 45	(+) APV A
Ct > 45	-	-	Ct > 45	(-) APV A
-	Ct ≤ 45	-	Ct ≤ 45 sau Ct ≤ 45	(+) APV B
-	Ct > 45	-	Ct > 45	(-) APV B
-	-	Ct ≤ 45	Ct ≤ 45 sau Ct ≤ 45	(+) APV C
-	-	Ct > 45	Ct > 45	(-) APV C
Ct ≤ 45	Ct ≤ 45	Ct ≤ 45	Ct ≤ 45	Invalid

Extracția ARN din probele biologice recoltate de la curcani utilizând kitul Nucleospin RNA II (MachereyNagel, Duren, Germany).

Protocolul de lucru s-a realizat conform etapelor descrise în manualul de utilizare a kit-ului. Fiecare probă de trahee sau pulmon a fost distribuită într-un tub cu 6 bile metalice cu diametrul de 2.8 mm (Hard Tissues Grinding Mix = Precellys lysing kit, Bertin), 300 µl de mediu clasic pentru culturi celulare (DMEM) conținând 10% ser fetal bovin (Gibeco). Probele de țesut au fost apoi lizate utilizând trituratorul de organe Precellys 24 lyser / homogenizer (Bertin, Franța) timp de 20 de secunde la 5500 rpm.

După triturare, probele s-au centrifugat la 1500 rpm timp de 2 minute. Premergător etapelor de extracție propriu-zise, s-a efectuat o liză celulară prin adăugarea a 350 μ l Buffer RA1 și 3.5 μ l β -mercaptoetanol peste trituratul de organe centrifugat din fiecare tub. După etapa de liză celulară, urmează extracția ARN-ului efectuată în șapte etape.

1. Filtrarea lizatului Se plasează filtrul Nucleospin în tubul colector și se adaugă amestecul precedent în coloană. Se centrifughează 1 min x 11.000 g;
2. Ajustarea condițiilor de precipitare a ARN-ului. Se pune filtratul într-un tub Eppendorf de 1.5 ml și se adaugă 350 μ l etanol 70%, apoi se omogenizează;
3. Precipitarea ARN-ului. Se plasează o coloană Nucleospin RNA II într-un tub de 2 ml, se adaugă lizatul din etapa 3 în coloană, se centrifughează 30s x 8.000g, se plasează coloana într-un nou tub de colectare;
4. Desalinizarea membranei de siliciu. Se adaugă 350 μ l de Membrane desalting Buffer, se centrifughează 1 min x 11.000 g, pentru a se usca membrana de siliciu;
5. Digestia ADN-ului. Se prepară mix-ul DNase într-un tub steril: 10 μ l DNase I + 90 μ l DNase reaction Buffer. Se depune 95 μ l de mix în centrul coloanei, se incubează 15 minute la temperatura camerei;
6. Spălarea și uscarea membranei de siliciu. Prima spălare: se adaugă 200 μ l de buffer RA2 în coloană, se centrifughează 30s x 8000g; se plasează coloana într-un nou tub colector. A doua spălare: Se adaugă 600 μ l de buffer RA3 în coloană, se centrifughează 30s x 8000g, se aruncă supernatantul și se repune coloana în tubul colector. A treia spălare: Se adaugă 250 μ l de buffer RA3, se centrifughează 2 min x 11000g pentru a se usca membrana;
7. Eluția ARN -ului. Se depun 60 μ l de apă RNase free în centrul coloanei și se centrifughează 1 min x 11000g.

7.1.6. Vaccin viu-atenuat contra rinotraheitei infecțioase a curcilor Aviffa Rti (Merial)

Acest produs se poate utiliza în imunizarea activă a puilor și curcanilor împotriva infecțiilor cu virusul rinotraheitei infecțioase aviare și se poate administra fie individual pe cale oculo-conjunctivală (fig.6.1), fie coectiv pe cale orală prin intermediul apei de băut (fig.6.2) sau pe cale respiratorie prin aerosoli.



Fig.7.1. Vaccinare oculoconjunctivală
Fig.7.1. Oculo-conjunctival vaccination



Fig. 7.2. Vaccinare în apa de băut
Fig.7.2. Vaccination in drinking water

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

La curcani, pentru creștere și îngrășare se recomandă prima vaccinare la vârsta de 7 și 21 de zile cu rapel la 56 de zile iar pentru curcanii de reproducție se recomandă vaccinarea începând cu vârsta de 6 săptămâni.

O doză vaccinală conține:

- Substanța activă – virusul rinotraheitei infecțioase aviare (TRT) atenuat, sușa $VCO3 \geq 10^{2,3}$ DICC₅₀ (doza care infectează 50% din cultura celulară transfectată);
- Excipienți: hidrolizat de cazeină, fracțiunea V de albumină bovină, manitol, povidonă, sucroză, fosfat monopotasic, fosfat dipotasic, glutamat de sodiu, apă distilată.

Produsul se va utiliza imediat după reconstituire, iar perioada de valabilitate este de 2 ani de la data fabricației. Se conservă și se transportă la temperaturi cuprinse între 2-8°C, ferit de lumină.

7.1.7 Construcții de vaccinuri bacteriene autogene (Vaxxinoa, Germania)

Au fost construite modele vaccinale utilizând tulpini bacteriene autogene pentru unele bacterii aerobe (*Ornitobacterium rinotracheale*, *Staphylococcus aureus*), *Escherichia coli*, precum și pentru germeni din genul *Mycoplasma*.

a. Construcții vaccinale autogene pentru bacterii aerobe

Prepararea culturii starter

-Izolatele sunt dezghețate și o placă de agar cu sânge se inoculează, apoi se incubează peste noapte la 37°C;

-Cultura STARTER este preparată din colonii specifice unic agent patogen și se incubează peste noapte la 37°C. Cultura inițială este de aprox. 10% din volumul dorit al culturii principale.

Zilele ulterioare:

-Cultura STARTER se transferă în vasul de cultură principală care conține volumul dorit de suporturi. Cultura principală este apoi incubată până când turbiditatea este vizibilă. Densitatea optică se măsoară repetat până când se atinge OD_{nm} dorită;

-O probă suplimentară este luată ca și control în proces 1 (IPC 1) și este inoculată pe o placă de agar cu sânge, după care se incubează peste noapte la 37°C;

-Culturile sunt inactivate utilizând formol și plăcile se incubează peste noapte, urmând ca a doua zi să se preleveze a doua probă de control în proces (IPC 2), care să demonstreze inactivarea cu succes a culturilor bacteriene;

-În funcție de agentul patogen, antigenul este apoi centrifugat și resuspendat în PBS, apoi depozitate la 4 ° C până la emulsificare.

b. Construcții vaccinale autogene pentru *Escherichia coli*

Prepararea culturii starter

-Izolatele sunt păstrate înghețate pe gheață și un inel ceramic ce conține izolatul este transferat într-un mediu TSB și se incubează peste noapte la 37°C.

Zilele ulterioare:

- Cultura STARTER este utilizată pentru a inocula plăcile de agar, care sunt apoi incubate peste noapte la 37°C;
- Pentru a recupera *E. coli* din plăci, se adaugă PBS pe fiecare placă și se incubează la temperatura camerei timp de 1-4 ore pentru a se detașa bacteriile din agar;
- O spatulă este, de asemenea, folosită pentru a se detașa bacteriile;
- Suspensia conținând *E. coli* este apoi recoltată într-un vas steril și o probă suplimentară de control de proces 1 este luată, inoculată pe agar cu sânge și incubată peste noapte la 37°C;
- Suspensia este apoi inactivată utilizând formalina, transferată într-un nou vas steril și incubată peste noapte, înainte de a lua un al doilea subeșantion pentru IPC-2, în scopul de a determina inactivarea cu succes.
- Densitatea optică este, de asemenea, măsurată.
- Antigenul este apoi stocat la 4 grade C până la emulsificare.

c. Construcții vaccinale autogene pentru germeni din genul *Mycoplasma*.

Ziua 1: Prepararea culturii STARTER

- Dezghețarea izolatelor de la -80°C;
- Incubare la temperatura de 37°C până când o schimbare de culoare a mediului de cultură este vizibil (36-48 ore);

Zile ulterioare:

- Se pornește de la un mediu de cultură inițială la 20 ml. Se incubează până la o schimbare vizibilă de culoare a mediului de cultură;
- Se mărește gradul de diluție treptat al culturilor, până când volumul dorit al culturii principale este atins (max. 9000ml);
- Atunci când o schimbare de culoare în cultura principală este vizibilă, o subprobă este luată pentru controlul în proces. Acest lucru se realizează pe medii solide. Incubarea subeșantionul se efectuează la 37°C;
- Cultura principală este inactivată cu formol și incubată peste noapte la temperatura camerei;
- A doua probă pentru procesul de control este luată și înșămânțat pe medii solide. Incubarea eșantionul se efectuează la 37°C;
- Rezultatele controalelor în proces sunt documentate. Antigenul este apoi depozitat la frigider și gata pentru emulsificare. Mediu utilizat este disponibil comercial ca și mediu Frey.4

7.1.8. Tehnica MALDI TOF MS

Spectrometria de masă MALDI-TOF se aplică asupra compușilor organici termolabili și non-volatili, cu masă moleculară mare și se utilizează cu succes în multe domenii ce aparțin biochimiei și biologiei pentru analiza de proteine, peptide, glicoproteine, oligozaharide și oligonucleotide.

Tehnica MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time -of-Flight Mass Spectrometry) furnizează o pătrundere unică în biologia bacteriană și chimie, bazată pe detectarea unor anumite substanțe chimice sau pe măsurarea

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

schimbărilor de natură chimică ca răspuns la influențele mediului.

Principiul metodei

- Proba este dispensată într-o matrice în exces, care va absorbi puternic raza de lumina incidentă;
- Matricea conține cromofori pentru raza laser, iar cum matricea este în exces molar considerabil, va absorbi toată radiația laser;
- Matricea izolează moleculele probei într-un mediu chimic, ceea ce îmbunătățește probabilitatea ionizării, fără fragmentare;
- Fasciculul laser pulsant, concentrat pe eșantionul de probă, va cauza volatilizarea probei și a matricei;
- Ionii rezultați sunt accelerați în câmpul electric, iar apoi purtați într-un tub de zbor, unde se separă în funcție de masă;
- Un dispozitiv de înregistrare la viteză mare va determina timpul de zbor al ionilor.

Utilizarea sistemului MALDI-TOF pentru identificarea germenilor patogeni din cultură este o metodă rapidă și sigură, care măsoară prin spectrometrie de masă amprenta moleculară unică a fiecărui microorganism.

Caracterele specifice ale proteinelor, care se găsesc în fiecare microorganism, sunt măsurate și utilizate pentru identificarea unui germen patogen specific, prin compararea respectivului „*pattern*” proteic cu o bază de date extensivă, ceea ce duce la identificarea microorganismului la nivel de specie.

Este o metodă cu o acuratețe crescută, aplicabilă unei palete largi de microorganisme, mult mai rapidă decât metodele tradiționale, robustă și ușor de utilizat.

7.1.9. Animale utilizate

Cercetările de față au interesat un număr de 7.447.004 hibrizi de curcă (masculi și femele) care au fost repartizați în 78 de serii ce s-au întins pe durata a șapte ani (2010-2016), fiind crescuți în șapte ferme diferite iar materialul genetic este compus din șapte hibrizi.

7.20. Analiza datelor

Analiza datelor epidemiologice și serologice a fost efectuată utilizând platforma Microsoft Office Excel, iar interpretarea datelor provine din analiza genetică a fost realizată prin intermediul programelor intrinseci corespunzătoare metodelor utilizate.

7.3. Rezultate și discuții

Pentru a sistematiza oarecum aceste șapte ferme luate în studiu s-a efectuat o analiză care a luat în calcul mai mulți factori cum ar fi: necesitatea și gradul intervenției, indicatorul epidemiologic mortalitate, synergismul microbiologic, vârsta țintă la care apar probleme, precum și imunizarea autogenă pentru ORT. În urma

acestei analize s-a hotărât gruparea fermelor în trei categorii, și anume: ferme cu presiune microbiană scăzută, ferme cu presiune microbiologică medie și ferme cu presiune microbiană ridicată.

7.3.1. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibridii de curcă la ferma Agro Nariman

În acest capitol cercetările s-au îndreptat către partea aplicativă, care prezintă cel mai mare interes pentru medicul veterinar de fermă și îl ajută ca să-și mențină efectivul în graficul de greutate prezentat de ghidurile de creștere.

În continuare, pentru a putea fi cât mai comprehensivi, am sistematizat rezultatele cercetărilor privind virusul rinotraheitei curcilor (TRT) și infecțiile cu *Ornitobacterium rinotracheale* în funcție de ferma în care s-au desfășurat cercetările pe toată durata proiectului. Rezultatele investigațiilor serologice întreprinse pe durata cercetărilor au fost furnizate în urma efectuării a trei screeninguri serologice pentru fiecare locație luată în studiu.

Rezultate și discuții privind TRT obținute la ferma Agro Nariman

Primul screening

Această fermă este o fermă mixtă, în care se face atât creșterea cât și îngrășarea hibridilor de curcă. La această fermă s-a aplicat o schemă de vaccinare contra TRT și au fost prelevate un număr de 210 probe de sânge din aceeași locație (Hala nr. 2), săptămânal de la indivizi diferiți.

Tabelul 7.10/Table 7.10

Protocol vaccinare curcani Agro Nariman Vaccination protocols of turkeys in Agro Nariman

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (Incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 de zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
48 de zile	Aviffa	Viu atenuat	B	În apa de băut

Protocolul de imunizare specifică contra TRT a fost reprezentat de o schemă de vaccinare în care s-au efectuat un număr de trei imunizări cu vaccin viu atenuat (tabelul 7.10).

Începând cu săptămâna 11 de viață se poate observa apariția unui puternic răspuns imun umoral anti-TRT (fig. 7.3) prin înregistrarea de titruri serologice ce depășesc valoarea de pozitivitate a testului ELISA utilizat de 1655 la DO 405_{nm}.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

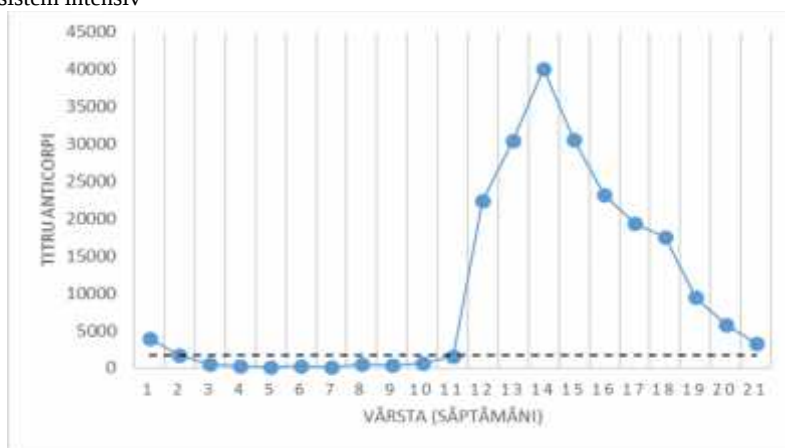


Fig. 7.3. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT

Fig.7.3. The dynamics of the humoral immune response to TRT

Începând cu vârsta de 10 săptămâni s-a constatat o creștere a incidenței afecțiunilor respiratorii, iar la vârsta de 13 săptămâni s-au recoltat probe de tampoane traheale care au fost analizate în laborator în vederea identificării virusului rinotraheitei curcilor (TRT). Ca o măsură complementară a fost administrat un tratament medicamentos cu fluorfenicol soluție orală 10%, care a redus intensitatea semnele de respiratorii și a făcut să scadă și procentul de mortalitate.

Din toate probele de țesuturi recoltate s-au constituit un număr de 10 puluri de probe care au fost analizate prin real time PCR. Rezultatele curbelor de amplificare au demonstrat că toate cele 10 probe au fost pozitive la TRT (fig. 7.4).

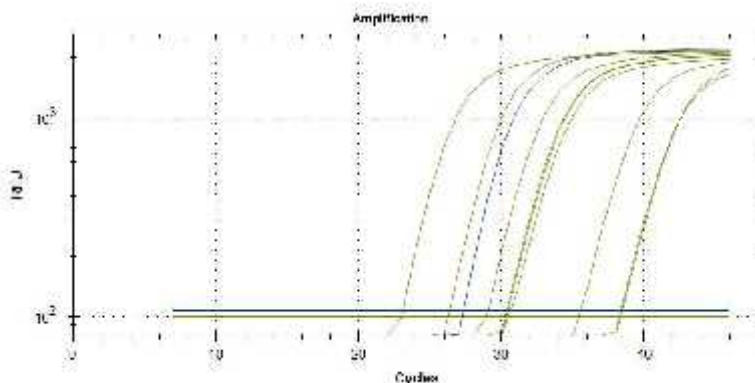


Fig. 7.4. Curba de amplificare pentru probele analizate

Fig. 7.4. The amplification curve for the samples analyzed

Al doilea screening

Au fost prelevate un număr de 252 probe de sânge. Probele au fost recoltate săptămânal de la aceeași hală (hala nr. 2) de la curcani, dar indivizi diferiți în fiecare săptămână.

Protocol vaccinare curcani (2)
Vaccination protocols of turkeys (2)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
48 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
75 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
104 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

Pentru această serie s-a întocmit un protocol de imunoprofilaxie specifică ce presupune imunizarea activă împotriva TRT utilizând un produs imunologic viu atenuat, ce conțina sușa vaccinală B, care a fost administrat de cinci ori la curcani, începând din incubație (ziua 1) și terminând cu ziua 104 de viață (tabelul 7.11).

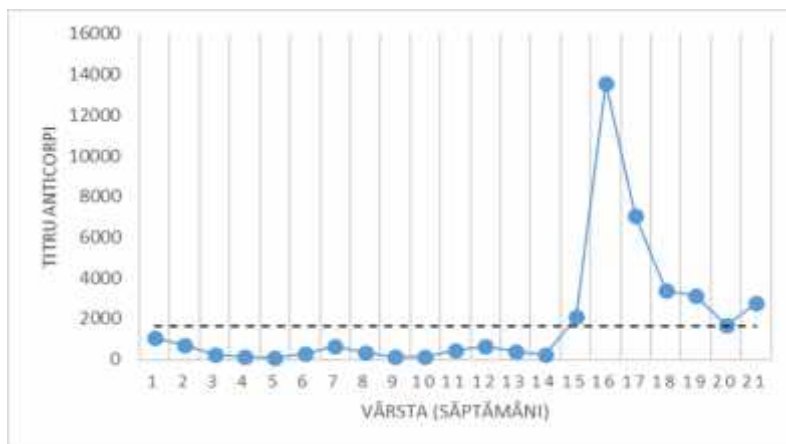


Fig. 7.5. Dinamica anticorpilor TRT după al doilea screening serologic
Fig. 7.5. TRT antibodies dynamics after the second serologic screening

Cinetica imunității umorale specifice în urma efectuării celui de-al doilea screening serologic a indicat un nivel al anticorpilor anti-TRT foarte scăzut până în săptămâna 15 de viață, atunci când titrul de anticorpi sare peste nivelul de pozitivitate al testului de 1655, atinge un vârf în săptămâna 16, pentru ca în săptămâna 20 să scadă până la limita de prag (fig.7.5).

Cu toate că s-a optat pentru un protocol cu cinci imunizări succesive rezultatele înregistrate au arătat un nivel crescut de anticorpi anti-TRT abia după ultima imunizare, ceea ce poate însemna fie că vaccinul utilizat nu desfășoară o acțiune imunogenă foarte puternică chiar dacă se apelează la rapeluri succesive ceea ce se poate datora și faptului că un alt tip de imunitate predomină în apărarea tractusului respirator, fie sistemul imunitar al acestor curcani nu este dezvoltat pe deplin încă sau este limitat în instrumente din punct de vedere genetic dacă se ține cont de faptul ca în procesul de creare al acestor hibrizi toate cercetările s-au îndreptat îndeosebi pentru

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

asigurarea unui spor mediu zilnic cât mai mare în detrimentul altor aspecte așa cum îl reprezintă sistemul imunitar. Totodată apariția anticorpilor specifici anti-TRT așa de târziu demonstrează și faptul că virusul sălbatic nu a pus presiune mare această serie de creștere, fiindcă testul ELISA utilizat utilizează metoda indirectă și nu poate face diferența dintre anticorpii virusului sălbatic de anticorpii tulpinii vaccinale utilizate.

Al treilea screening

Pentru această investigație au fost prelevate un număr de 252 probe de sânge. Probele au fost recoltate săptămânal de la aceeași hală (Hala nr. 2) și de la aceeași curcani, ei fiind crescuți într-un țarc situat în mijlocul halei de creștere. (fig.7.6).



Fig. 7.6. Repartizarea curcanilor în țarcul pentru screening

Fig. 7.6. Distribution of turkeys in ring for screening

Protocolul de imunizare a utilizat aceeași schemă de vaccinare cu cinci vaccinări împotriva TRT utilizând același preparat imunologic comercial viu atenuat aplicat la aceeași vârstă de imunizare.

În urma efectuării testului ELISA pe probele recoltate de la cei 252 de curcani, rezultatele au evidențiat o creștere a titrului de anticorpi anti-TRT peste nivelul de pozitivitate exprimat de producătorul testului imunoenzimatic utilizat începând cu săptămâna 12 de viață cu un vârf înregistrat în săptămâna 13, pentru ca mai apoi să scadă progresiv, ajungând la finalul perioadei de investigare la valori apropiate de prag (fig.7.7).



Fig. 7.7. Dinamica anticorpilor TRT după al treilea screening serologic

Fig. 7.7. TRT antibodies dynamics after the third serological screening

Din cauza creșterii peste medie atât a numărului de curcani ce prezintă simptome respiratorii cât și a severității formelor acestora de exprimare au fost recoltate 10 tamponuri traheale la vârsta de 11 săptămâni. Rezultatele înregistrate au indicat identificarea genetică prin real time PCR a virusului rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) în toate probele prelevate, iar după tipizare a fost identificat tulpina B a acestui virus. Astfel, se poate explica și creșterea explozivă a titrurilor de anticorpi la vârsta de 11 săptămâni, moment în care acestea au crescut de 277 de ori (de la 311 la 38244), tulpina vaccinală singură neputând asigura o astfel de creștere exponențială a imunității umorale specifice TRT.

Dacă se evaluează comparativ nivelul anticorpilor anti-TRT se remarcă un titru foarte crescut la curcanii ce au constituit furnizori de probe biologice din screeningurile 1 și 3, în timp ce la screeningul 2 se remarcă creștere mai lentă fără a înregistra valori comparabile cu celelalte screeninguri efectuate (fig.7.8).

Totodată, dacă aceste rezultate sunt coroborate cu rezultatele obținute prin RT-PCR care au evidențiat prezența virusului rinotraheitei a curcilor (TRT) la curcanii din screeningurile 1 și 3, iar curcanii din screeningul 2 nu au prezentat probleme respiratorii deosebite, se poate afirma că acele titruri exacerbate sunt datorate în primul rând infecțiilor cu virusul sălbatic și mai puțin a vaccinului utilizat.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

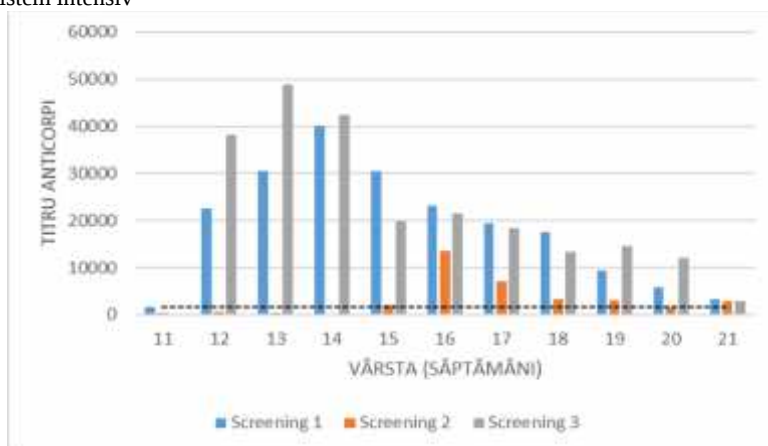


Fig. 7.8. Cinetica anticorpilor anti-TRT la toate cele trei screeninguri efectuate
Fig. 7.8. The kinetics of anti-TRT antibodies to all three screenings performed

Rezultatele furnizate pentru această fermă nu pot evidenția un trend specific în funcție de numărul de vaccinări anti-TRT efectuat, precum și care schemă de imunizare ar fi mai eficientă. Acest deziderat nerealizat se datorează în cea mai mare măsură infecției curcanilor cu virus sălbatic care s-a suprapus cu cel vaccinal.

La curcanii ce au făcut parte din investigațiile întreprinse la ferma Agro Nariman s-au înregistrat valori ale indicatorului mortalitate mult sub cele indicate de ghidul de creștere fără a dezvolta o tendință anume sau de a copia fidel tendința ghidului (fig.7.9).

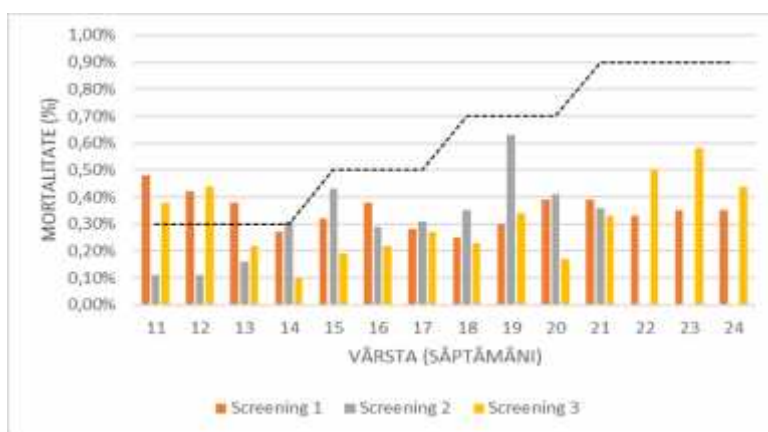


Fig. 7.9 Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere
Fig. 7.9 The evolution of mortality compared to user growth guide

Pierderile prin mortalitate înregistrate la vârste de peste 11 săptămâni, mai reduse decât valorile estimate prin ghidurile de creștere, sunt rezultatul influenței mai multor factori reprezentați de o presiune microbiologică redusă, schemele de vaccinare aplicate, tratamentele medicamentoase aplicate precum și condițiile tehnico-sanitare de creștere și îngrijire.

Rezultate și discuții privind ORT obținute la ferma Agro Nariman

Primul screening

Această fermă este o fermă mixtă, fermă în care se face atât creșterea cât și îngrășarea. La această fermă, hibrizii de curcă ce au făcut parte din studiu nu au fost imunizați anterior împotriva infecțiilor cu *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT). Săptămânal a fost prelevat un număr de 210 probe de sânge. Probele au fost recoltate de la masculi, indivizi diferiți la fiecare prelevare dar care sunt crescuți pe același stabiliment, respectiv hala 2 de creștere.

Cinetica anticorpilor specifici ORT arată un nivel crescut încă din incubajie, dar care scade foarte repede sub pragul de pozitivitate al testului imunoenzimatic utilizat, apoi se constată o creștere foarte mare a concentrației serice de anticorpi anti-ORT începând cu săptămâna 11 de viață și care se menține la valori crescute până la finalul studiului (fig.7.10). Această dinamică nu manifestă o tendință anume, fenomen ce poate fi datorat fie sistemului imunitar deficitar al curcanilor de carne sau variațiilor individuale ale calității răspunsului imun dacă luăm în considerare că pe parcursul studiului s-au recoltat probe de la indivizi diferiți de la o recoltare la alta, fie acest fenomen se datorează intervenției agentul patogen.

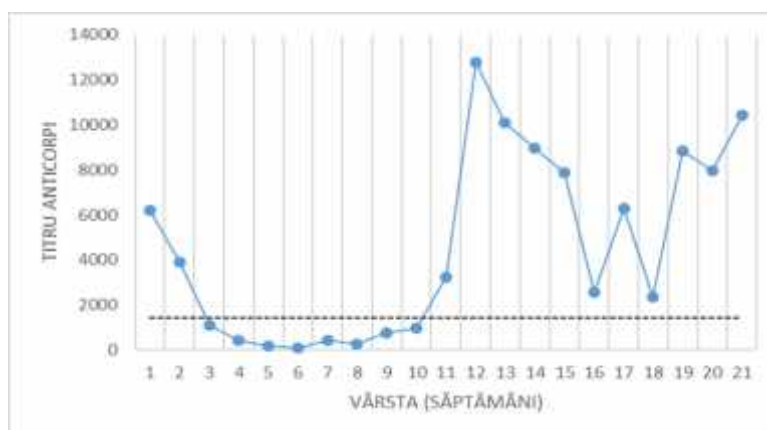


Fig. 7.10. Dinamica anticorpilor ORT după primul screening serologic

Fig. 7.10. ORT antibodies dynamics after the first serological screening

La vârsta de 13 săptămâni s-a constatat o intensificare a manifestărilor respiratorii și s-au recoltat probe de tamponare traheale.

Rezultatele obținute utilizând real time PCR (fig.7.11) au indicat că din cele 10 probe examinate în vederea identificării agentului bacterian *Ornitobacterium rinotracheale* doar o singură probă a fost pozitivă.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

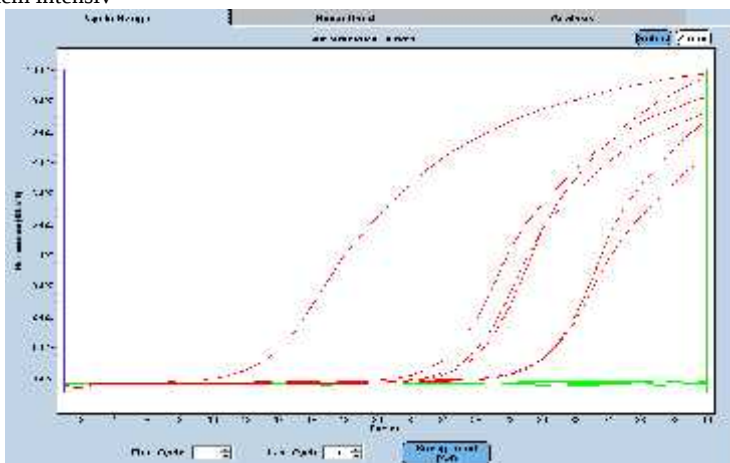


Fig. 7.11. Curba de amplificare pentru probele analizate (ORT)
Fig. 7.11. The amplification curve for the samples analyzed (ORT)

Al doilea screening

Pentru acest studiu s-au prelevat un număr de 252 probe de sânge. Probele au fost recoltate săptămânal de la masculi, indivizi diferiți dar care au fost crescuți exact în aceleași condiții tehnologice și de microclimat, respectiv hala 2 de creștere. La fel ca și la primul screening curcanii nu au fost imunizați contra ORT.

Încă din incubatie se constată un nivel crescut de anticorpi specifici anti-ORT care scad foarte repede, dispărând sub pragul de pozitivitate al testului ELISA utilizat în săptămâna 3 de viață (fig.7.12). Cinetica anticorpilor prezintă o intensificare considerabilă începând cu săptămâna 10 de viață și se menține peste prag până la sfârșitul studiului, *peak-ul* fiind înregistrat în săptămâna 11 când are valori ale DO 405 nm de aproape 7 ori mai mari raportat la pragul de pozitivitate (9685 față de 1432). Nici în acest studiu nu se constată conturarea unei tendințe în cinetica răspunsului imun.

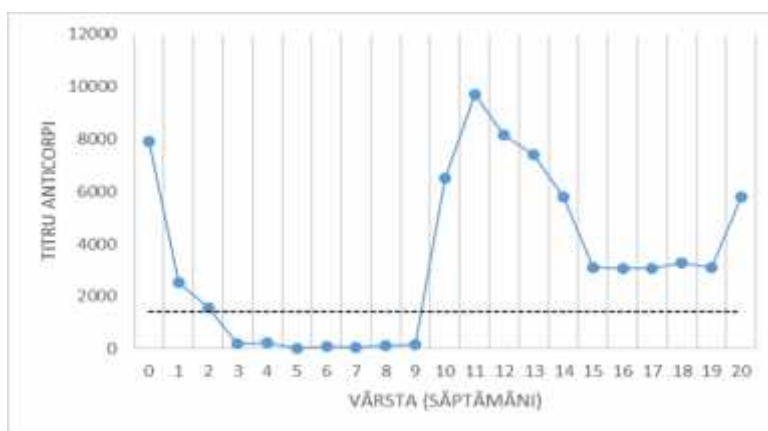


Fig. 7.12. Dinamica anticorpilor ORT după al doilea screening serologic
Fig. 7.12. ORT antibodies dynamics after the second serological screening

Al treilea screening

În această etapă a cercetărilor au fost prelevate un număr de 252 probe de

sânge. Probele au fost prelevate săptămânal de la aceeași hală (Hala nr. 2) și, spre deosebire de celelalte două screeninguri serologice efectuate anterior, probele au fost recoltate de la aceeași curcani care au fost repartizați într-un Țarc separat pentru a putea fi identificați pe durata desfășurării cercetărilor. La fel ca și în celelalte două screeninguri anterioare desfășurate în această fermă hibridii de curcă nu au fost imunizați anterior pentru ORT.

Răspunsul imun umoral pentru ORT cunoaște o intensificare mult peste pragul de pozitivitate al testului începând cu vârsta de 12 săptămâni de viață, atunci când se înregistrează și cel mai mare titru, de peste șapte ori mai mare comparativ cu pragul stabilit de test. După acest vârf cinetica înregistrează o tendință descendentă dar care se menține la nivel crescut până la sfârșitul studiului (fig.7.13).

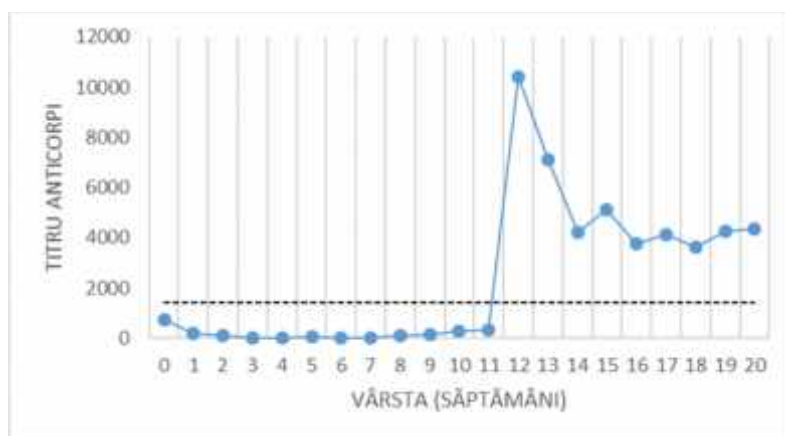


Fig. 7.13. Dinamica anticorpilor ORT după al treilea screening serologic

Fig. 7.13. ORT antibodies dynamics after the third serological screening

Au fost prelevate probe constând în 10 tampoane traheale care au fost analizate prin RT-PCR, însă rezultatele au fost negative. Totodată au fost analizate și probe de trahee care, în urma utilizării tehnologiei de spectrometrie în masă prin tehnica MALDI TOF s-a reușit identificarea ORT subtipul A și subtipul I.

Dacă se analizează dinamica răspunsului imun umoral pentru ORT furnizat de curcanii care au făcut parte din toate cele trei anchete serologice desfășurate în cadrul fermei Agro Nariman luând în considerare doar perioada în care cinetica acestor anticorpi a înregistrat o curbă ascendentă, adică începând cu săptămâna 10 de viață, se constată valori foarte mari de anticorpi anti-ORT la primul screening care au o scădere accentuată în săptămânile 15 și 17 după care cresc până la sfârșitul perioadei de analiză (fig.7.14). La ultimele două perioade de analiză se poate observa o tendință comună de valori apropiate pe toată durata desfășurării studiului. Dacă se compară rezultatele obținute de la curcani diferiți pe toată durata studiului (screening 1 și 2) cu cele obținute de la aceeași curcani (screening 3) nu se poate face o analogie logică sau să se evidențieze o tendință anume a rezultatelor furnizate. Cu toate acestea, indiferent de modelul experimental utilizat în privința materialului biologic utilizat, gradul de răspuns umoral anti-ORT nu pare a fi influențat de această variabilă.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

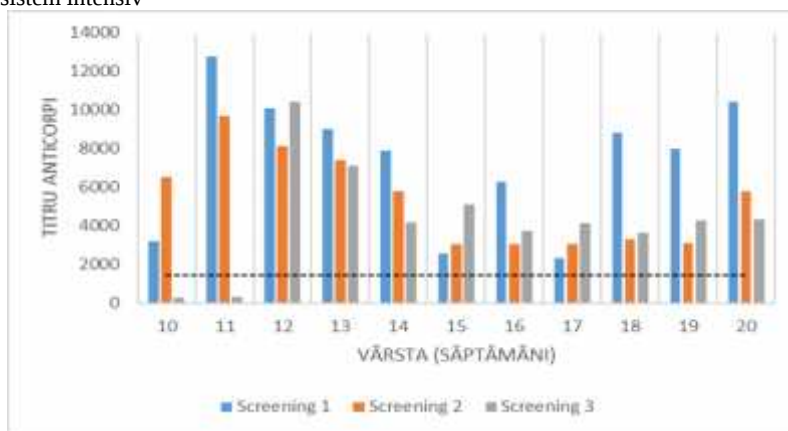


Fig. 7.14. Cinetica anticorpilor anti-ORT la toate cele trei screeninguri efectuate
Fig. 7.14. The kinetics of anti-ORT antibodies to all three screenings performed

Sinergismul microbiologic înregistrat între TRT, ORT și alte bacterii

Interacțiunile patogene dintre virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) cu *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT) și cu bacterii din genul *Bordetella* sau *Escherichia coli* a determinat apariția unui posibil synergism, iar parametrii utilizați pentru evaluarea acestuia au fost reprezentați de: semnele clinice, tabloul anatomopatologic, screeningul serologic precum și identificarea microbiologică.

Tabelul 7.12/Table 7.12

Agenti patogeni identificați la curcanii cu semne respiratorii
Pathogens identified turkeys with respiratory signs

Nr. probă	Locație	Vârsta (săptămâni)	ELISA TRT	ELISA ORT	Examen bacteriologic
1	Hala 1	16 Săptămâni	61135	10792	<i>Mycoplasma ssp.</i>
2			48409	14419	
3			59362	10209	
4			62617	2243	<i>Bordetella ssp.</i>
5			52885	4038	
6			57238	11335	
7			64183	9328	<i>Escherichia coli</i>
8			58836	3262	
9			61433	10237	
10			53675	10327	

Dacă se analizează cinetica anticorpilor rezultată din valorile medii din cele trei anchete serologice efectuate în cadrul fermei Agro Nariman atât pentru TRT cât și pentru ORT nu se poate observa un trend bine conturat dar există o tendință similară de creștere începând cu săptămâna 11 de viață, iar spre sfârșitul perioadei luate în studiu se constată o creștere a anticorpilor anti-ORT care poate fi pusă pe seama creșterii presiunii microbiene în hala de creștere aproape de vârsta de livrare (fig.7.15).

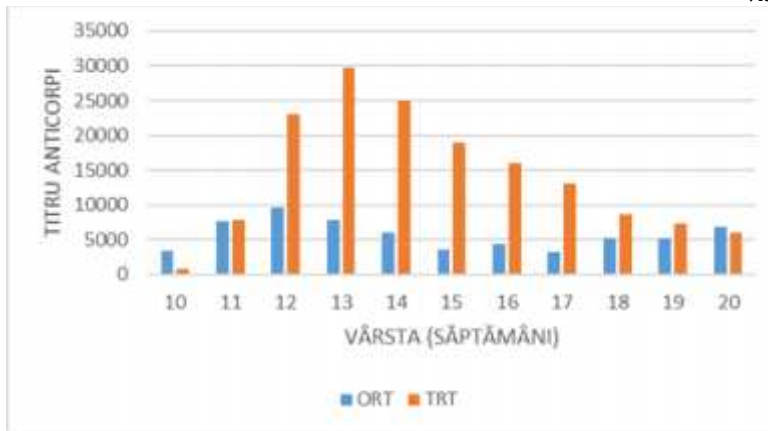


Fig. 7.15. Analiză comparativă dintre cinetica anticorpilor ORT și TRT
Fig. 7.15. Comparative Analysis of the kinetics of antibodies ORT and TRT

Sinergismul dintre TRT, ORT și alte bacterii este direct proporțional cu intensitatea semnelor clinice și cauzează foarte multe pierderi crescătorilor, cuantificate atât prin mortalitate crescută și nerealizarea sporului cât și prin cheltuieli cu tratamentele medicamentoase aplicate.

7.3.2. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibridii de curcă la ferma Cărpiniș

La această fermă s-au efectuat trei anchete de seroprevalență care au vizat atât infecțiile cu virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT), cât și infecțiile cu *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT). Aceste cercetări întreprinse au evidențiat eficacitatea măsurilor imunoprofilactice aplicate în funcție de particularitățile întâlnite la fiecare serie de creștere și îngrășare luată în studiu.

Rezultate și discuții privind TRT obținute la ferma Cărpiniș

Primul screening

Această fermă este o fermă mixtă în care se practică atât creșterea cât și îngrășarea curcanilor de carne. Au fost prelevate un număr de 210 probe de sânge din spații diferite, respectiv halele de creștere nr. 9, 7 precum și hala 3.

Tabelul 7.13/Table 7.13

Protocol imunizare curcani ferma Cărpiniș immunization protocol of turkey in Cărpiniș farm

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (Incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 de zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
47 de zile	Aviffa	Viu atenuat	B	În apa de băut

Protocolul de imunizare ales a constat în aplicarea unei scheme de vaccinare cu trei administrări de vaccin viu atenuat începând din incubație, continuând la 21 de zile

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv cu rapel în ziua 47 (tabelul 7.13).

Rezultatele furnizate utilizând testul ELISA au indicat o concentrație a anticorpilor specifici TRT peste pragul de pozitivitate indicat de producătorul testului aproape pe toată perioada desfășurării anchetei serologice. Încă din incubație s-a înregistrat o concentrație foarte ridicată de anticorpi specifici care a scăzut foarte repede în intensitate (fig.7.16) și care poate fi explicată fie prin imunizarea specifică încă din incubație sau prin transferul imunității maternale. Creșteri ale valorilor înregistrate de matori umorali au mai fost întâlnite în săptămânile 4 și 7 dar cea mai mare a fost în săptămâna 10 (aproape de 10 ori comparativ cu valoare obținută în săptămâna precedentă). Începând cu săptămâna 12 curba imunității umorale specifice descrește constant până la finalul perioadei luate în studiu.



Fig.7.16. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 1) la ferma Cărpiniș
Fig. 7.16. The dynamics of the humoral immune response to TRT (screening 1) in Cărpiniș farm

Dacă se corelează calitatea răspunsului imun obținut cu imunizarea activă care s-a efectuat se poate observa că a doua imunizare efectuată la vârsta de 21 de zile a determinat un răspuns umoral pozitiv, la fel ca și vaccinarea de rapel efectuată la vârsta de 47 de zile. Însă, calitatea acestui răspuns imun umoral specific anti-TRT a fost de scurtă durată. Deoarece indicatorul mortalitate a avut o valoare crescută în intervalul de vârstă 8-14 săptămâni, deși s-a menținut în parametri tehnologici iar clinic în hală au fost prezente semne respiratorii specifice s-a recurs la prelevarea la vârsta de 9 săptămâni a 10 tamponare traheale de la curcanii ce aveau traheea puternic congestionată.

Rezultatele furnizate la RT-PCR au arătat că nici una dintre cele 10 probe supuse analizei genetice nu a fost pozitivă, nefiind astfel identificat metapneumovirusul aviari.

Al doilea screening

Pentru această anchetă serologică a fost prelevat un număr de 252 probe de sânge. Probele au fost recoltate săptămânal de la aceeași hală (Hala nr.3) și de la aceeași curcani care au fost separați de restul efectivului într-un țarc plasat la mijlocul halei. Protocolul de imunizare a constat într-o schemă de vaccinare cu administrarea

de cinci vaccinări împotriva TRT, iar raționamentul pentru care s-a ales acest tip de protocol a fost acela de a avea o protecție sporită contra TRT, pentru a evita concomitent și complicațiile bacteriene ulterioare.

Tabelul 7.14/Table 7.14

Protocol imunizare TRT ferma Cărpiniș (screening 2)
Imunization protocols for TRT in Cărpiniș farm (second screening)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
48 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
75 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
104 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

La această serie s-a utilizat ca și material biologic un preparat imunologic comercial ce conține o tulpină virală vie și atenuată. Prima imunizare s-a efectuat încă din incubație apoi au urmat o serie de 4 reimunizări cu același preparat, ultima administrare făcându-se la vârsta de 104 zile (tabelul 7.14).

Pe durată desfășurării experimentului nivelul anticorpilor specifici anti-TRT au înregistrat valori peste pragul de pozitivitate încă din incubație dar care a scăzut repede, însă începând cu săptămâna 9 s-au înregistrat doar valori pozitive, cu un vârf al concentrației serice de anticorpi specifici în săptămâna 11 (valori de 4 ori mai mari decât rezultatul obținut la recoltarea precedentă și de 20 de ori mai mari decât limita de pozitivitate impusă de test). După acest *peak* concentrația serică descrie o curbă descendentă până la finalul perioadei analizate (fig. 7.17).



Fig.7.17. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 2) la ferma Cărpiniș
Fig. 7.17. The dynamics of the humoral immune response to TRT (screening 2) in Cărpiniș farm

Al treilea screening

Pentru această etapă a fost prelevate un număr de 252 probe de sânge. Probele au fost recoltate săptămânal de la aceeași curcani crescuți într-un țarc colectiv în

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

aceeași hală (Hala nr. 5). Pentru această etapă a cercetărilor s-a optat pentru un protocol de imunizare activă împotriva virusului rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) ce cuprinde o schemă de vaccinare ce constă în cinci imunizări.

Tabelul 7.15/Table 7.15

Protocol imunizare TRT ferma Cărpiniș (screening 2)
Imunization protocole dor TRT in Cărpiniș farm (second screening)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
53 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
82 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
108 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival

Astfel, și la această serie de curcani s-a recurs tot la o schemă de imunizare activă ce presupune 5 administrări la fel ca și la seria de curcani din screeningul anterior. Totuși, comparativ cu seria anterioară luată în studiu chiar dacă s-a utilizat același preparat imunologic comercial s-au modificat datele de administrare la ultimile trei imunizări astfel că ultima imunizare s-a efectuat la vârsta de 108 zile față de 104 zile la seria precedentă. Un alt aspect discrepant este și calea de administrare fiindcă de această dată s-a recurs la administrarea oculo-conjunctivală (tabelul 7.15).

La această serie luată în studiu se remarcă încă din incubatie un nivel foarte crescut de anticorpi specifici anti-TRT dar care descrește foarte repede. Cinetica anticorpilor este nespecifică, titrurile umorale menținându-se sub nivelul de pozitivitate al testului ELISA până în săptămâna 16 când cresc exponențial înregistrând valori de 13 ori peste pragul kitului utilizat în săptămâna 17, urmând apoi un trend descendent până la finalul perioade analizate (fig. 7.18).

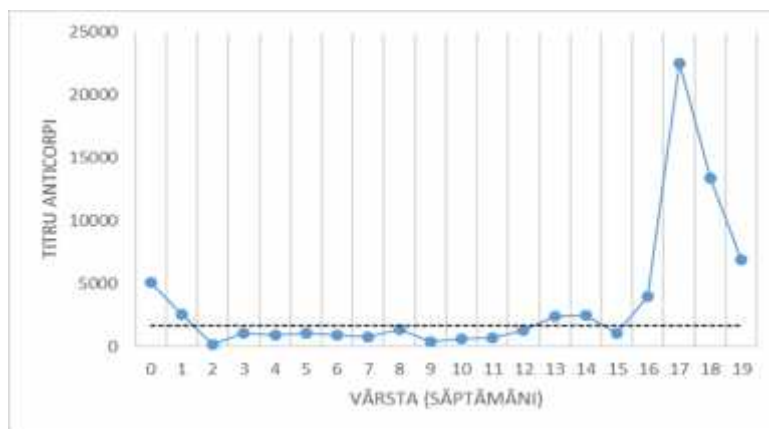


Fig.7.18. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 3) la ferma Cărpiniș
Fig. 7.18. The dynamics of the humoral immune response to TRT (third screening) in Cărpiniș farm

Cu toate că nu au fost motive medicale întemeiate, neexistând o patologie respiratorie presantă s-au recoltat în intervalul de vârstă 11-13 săptămâni câte 10

tampoane traheale care au fost examinate prin tehnici de biologie moleculară. Rezultatele furnizate la RT-PCR au fost negative virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor nefiind identificat în probele analizate.

Dacă se analizează comparativ dinamică răspunsurilor umorale specifice contra TRT la toate cele trei perioade de screening serologic se conturează o tendință comună întâlnită la primele două anchete efectuate, chiar dacă gradul de intensitate este ușor diferită, ea fiind mai intensă la prima serie analizată (fig.7.19).

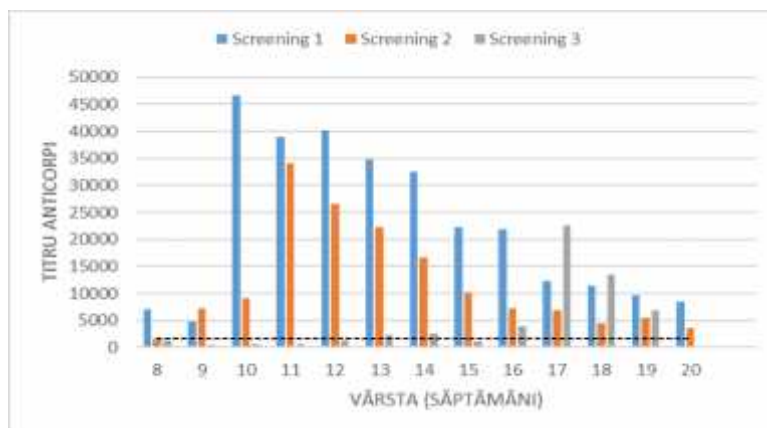


Fig. 7.19. Cinetica anticorpilor anti-TRT la toate cele trei screeninguri efectuate la ferma Cărpiniș
Fig. 7.19. The kinetics of anti-TRT antibodies to all three screenings performed in Cărpiniș farm

Din punct de vedere al legăturii cu schema de vaccinare utilizată se observă că imunizarea activă cu cinci administrări efectuată la păsările din screeningul 2 de studiu nu este cu nimic mai eficientă (ba chiar dimpotrivă), în acest caz cel puțin, decât metoda de imunizare ce utilizează doar trei administrări de preparat imunologic comercial viu atenuat. Cu toate acestea, dacă se compară eficacitatea preparatului imunologic din punct de vedere al căii de administrare în condițiile unui protocol de imunizare activă ce presupune cinci vaccinări succesive, se constată că administrarea acestui preparat imunologic pe cale oculo-conjunctivală nu are ca rezultat sinteza de anticorpi specifici, nivelul acestora fiind insignifiant comparativ cu seria de curcani care au fost imunizați prin aerosoli și care au dezvoltat un răspuns imun umoral peste pragul de pozitivitate impus de producătorul testului.

Dacă se face o analiză a indicatorului epidemiologic mortalitate la cele trei serii de curcani ce au făcut parte din cercetările efectuate se poate remarca că acest indicator a înregistrat valori în general sub cele stabilite în ghidul de creștere (fig.7.20).

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

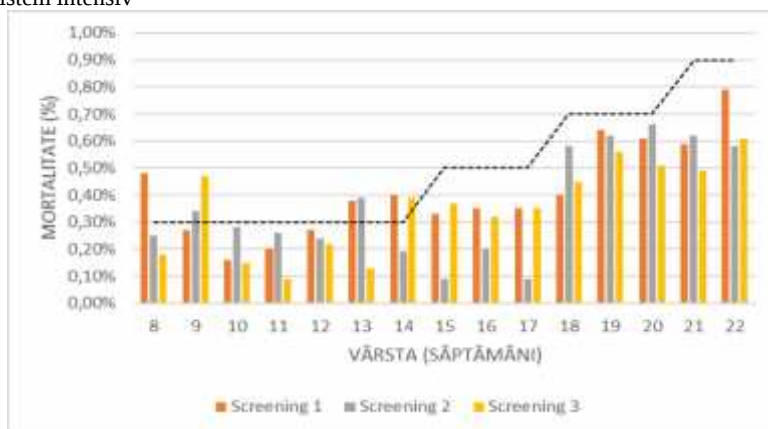


Fig. 7.20. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la ferma Cărpiniș
Fig. 7.20. The evolution of mortality compared to user growth guide in Cărpiniș farm

La toate cele trei serii de curcani s-au înregistrat pierderi prin mortalitate sub limitele prevazute de indicatorii tehnologico-sanitari precum și în marja de profit financiar.

Rezultate și discuții privind ORT obținute la ferma Cărpiniș

Primul screening

În această fermă hibridii de curcă care au făcut parte din experiment nu au fost imunizați împotriva ORT. Au fost prelevate un număr de 210 probe de sânge de la cele trei vârste existente în fermă. De la fiecare vârstă a fost aleasă o hală (Hala nr. 9, 7, 3) din care s-au prelevat câte 10 probe o dată la 3 săptămâni.

Rezultatele furnizate de testul ELISA la primul screening serologic realizat ne arată că încă din incubație curcanii aveau un titru considerabil de anticorpi anti-ORT datorat cel mai probabil anticorpilor maternali transmiși de la ascendenți în urma aplicării multiplelor scheme de imunizare specifică. Apoi, începând cu săptămâna 7 titrul depășește cu mult pragul de pozitivitate al testului ajungând la o valoare maximă la 9 săptămâni, după care descrește nespecific până la finalul perioadei analizate (fig.7.21).



Fig. 7.21. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la ferma Cărpiniș
Fig. 7.21. The dynamics of ORT antibodies (screening 1) at the farm Cărpiniș

Datorită faptului că acești participanți la experiment nu au fost imunizați specific anterior, răspunsul imun umoral identificat este constituit doar din activitatea antigenică și patogenică a lui *Ornitobacterium rinotracheale*. Cu toate acestea rezultatele nu sunt foarte interpretative deoarece testul a fost efectuat pe indivizi diferiți în fiecare săptămână. Totuși, rezultatele indică prin vârfurile sale serologice înregistrate săptămânile 9, 11, 14 și 19 că au existat tot atâtea episoade de boală care au fost urmate de o creștere a nivelului de anticorpi.

Clinic, în hală, au fost prezente semne respiratorii specifice. Astfel, la apariția primelor simptome respiratorii au fost recoltate la vârsta de 9 săptămâni 10 tamponane traheale (puternic congestionate). Rezultatul obținut la examenul bacteriologic al acestor probe a fost pozitiv pentru *Ornitobacterium rinotracheale*, iar în urma tipizării au fost identificate subtipurile A și I.

Al doilea screening

Au fost prelevate un număr de 252 probe de sânge. Probele au fost recoltate săptămânal de la aceeași hală (Hala nr. 3) și de la aceeași curcani (au fost individualizați într-un țarc separat de restul halei de creștere), pentru a putea obține dinamica imunității umorale specifice în ansamblu pe toată seria de creștere și îngrășare.

Cinetica titrurilor de anticorpi specifici ORT este asemănătoare cu rezultatele furnizate de screeningul precedent chiar dacă au fost recoltate probele de la aceeași indivizi în fiecare săptămână. Se observă o creștere exponențială de la 10 la 11 săptămâni, creștere care în hală a corespuns cu apariția primului episod de zgomote respiratorii. De asemenea, se observă anumite vârfuri umorale la vârsta de 11,13 și 16 săptămâni care în hală au corespuns cu apariția semnelor respiratorii (fig.7.22).



Fig. 7.22. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la ferma Cărpiniș
Fig. 7.22. The dynamics of ORT antibodies (second screening) at the farm Cărpiniș

Al treilea screening

Au fost prelevate un număr de 252 probe de sânge. Probele au fost recoltate săptămânal de la aceeași hală (Hala nr. 5) și de la aceeași curcani (crescuți în țarc separat de restul halei), pentru a vedea exact ce se întâmplă de la o săptămână la alta.

Dinamica anticorpilor anti-ORT înregistrează o curbă ascendentă și peste

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

pragul de pozitivitate impus de testul ELISA utilizat în aceste cercetări începând din săptămâna 8, vârful fiind înregistrat în săptămâna 16 când titrul este de peste șase ori mai mare decât pragul de pozitivitate al testului (fig.7.23).



Fig. 7.23. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la ferma Cărpiniș
Fig. 7.23. The dynamics of ORT antibodies (third screening) at the farm Cărpiniș

La vârsta de 7 spre 8 săptămâni se constată o creștere bruscă a titrului de anticorpi de la 0 la 4093. Ca și corespondent clinic în hală la vârsta de 9 săptămâni s-a constatat doar o ușoară inactivitate, fără semne respiratorii specifice alarmante. Drept urmare s-a recurs la administrarea unui tratament medicamentos cu fluorfenicol pentru a evita o creștere a mortalității.

Cu toate acestea, la vârsta de 11 și respectiv 13 săptămâni au fost recoltate probe de tampoane traheale, chiar dacă păsările nu prezentau simptome respiratorii. În urma analizării probelor recoltate utilizând real time PCR rezultatele s-au dovedit a fi negative, nefiind identificat ORT din eșantioanele supuse analizelor.

Ca și în cazul TRT nici în cazul ORT nu se dezvoltă o tendință comună raportată la cele trei screeninguri efectuate în cadrul facilităților zootehnice oferite de ferma Cărpiniș. Cu toate acestea, indiferent dacă s-au utilizat curcani diferiți sau aceeași curcani, în protocolul experimental din cele trei etape se poate constata la toate seriile investigate un nivel al anticorpilor specifici ce înregistrează valori peste pragul de pozitivitate indicat de testul ELISA utilizat în aceste cercetări (fig.7.24).

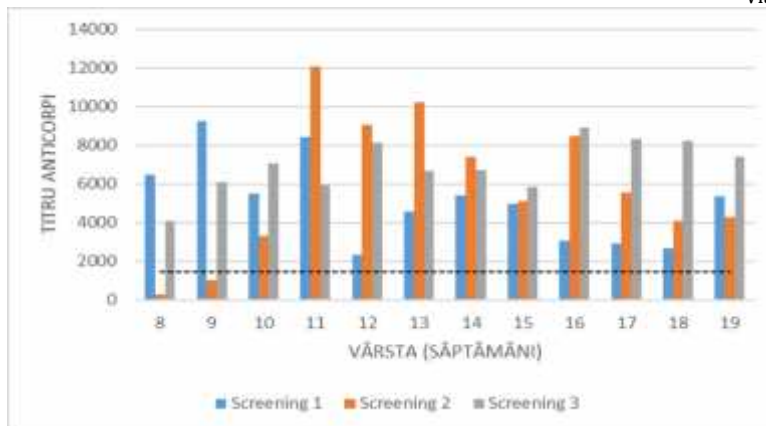


Fig. 7.24. Cinetica anticorpilor anti-ORT la toate cele trei screeninguri efectuate la ferma Cărpiniș
Fig. 7.24. The kinetics of ORT antibodies to all three screenings performed in Cărpiniș farm

Sinergismul TRT-ORT-bacteriilor în cadrul fermei Cărpiniș

Această fermă este izolată, motiv pentru care nu este întâlnită o presiune microbiană permanentă, ceea ce se evidențiază și din rezultatele obținute și din procentul de mortalitate mai redus comparativ cu alte ferme mai aglomerate. Pe acest stabiliment presiunea microbiană este dată doar de faptul că în același timp se cresc curcani cu vârste diferite, adică serii diferite dar aceiași oameni sunt implicați în toată ferma și pot vehicula foarte ușor agenții patogeni de la o serie la alta.

Rezultate interesante au fost obținute atunci când s-au recoltat tampoane traheale la vârsta de 78 de zile și de 88 de zile iar în urma examinării acestora nu s-a putut identifica virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor și nici *Ornitobacterium rinotracheale*. În plus, rezultatele examenelor de laborator au arătat că nu s-au putut identifica nici bacterii din genul *Bordetella*, *Rimerella* sau *Mycoplasma galisepticum* și *Mycoplasma synoviae*. Aceste rezultate pot reprezenta o dovadă în plus la mecanismul sinergismului în ipoteza în care dacă nu s-a creat un dezechilibru determinat, în principal, de TRT și ORT atunci populațiile microbiene se mențin într-un echilibru comensal nepatogen.

Cu toate acestea, la prima serie care a făcut parte din aceste cercetări la vârsta de 9 săptămâni crescută în hala 3, a fost identificată prezența ORT subtipurile A și I, dar pe lângă acestea au mai fost identificate și bacterii ca *Bordetella hinzii* și *Escherichia coli*, dovedind astfel sinergismul microbiologic ce se declanșează atunci când se rupe echilibrul microbiologic.

7.3.3. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibridii de curcă la Ferma 6 (Sighișoara)

La această fermă s-au efectuat trei anchete de serologice care au vizat atât infecțiile cu virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT), cât și infecțiile cu *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT). Aceste cercetări întreprinse au evidențiat eficacitatea măsurilor imunoprofilactice aplicate în funcție de particularitățile întâlnite

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

la fiecare serie de creștere și îngrășare luată în studiu.

Rezultate și discuții privind TRT obținute la Ferma 6 (Sighișoara)

Primul screening

Această fermă este o fermă mixtă, fermă în care se face atât creșterea cât și îngrășarea hibridilor de curcă. La această fermă s-a implementat un protocol de imunizare constând într-o schemă de vaccinare contra TRT, ce constă în doar două imunizări (tabelul 7.16). Au fost prelevate un număr de 210 probe de sânge de la hale diferite (A2, C13, C17), o dată la 3 săptămâni câte 30 probe. Probele au fost recoltate de la curcani diferiți în fiecare săptămână dar care au aparținut aceleiași hale.

Tabelul 7.16/Table 7.16

**Protocol imunizare Ferma 6 (1)
Immunization protocol at Farm 6 (1)**

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival

Pentru această fermă dar și pentru acest screening s-a recurs la utilizarea unui protocol de imunizare ce constă în doar două imunizări active ce au utilizat un vaccin comercial ce utilizează o tulpină vie atenuată a subtipului B a virusului TRT și care s-a administrat în incubație și în ziua 21 de viață.

Schema de vaccinare aplicată, corelată cu tratamentele preventive aplicate au asigurat o liniște epidemiologică în ceea ce privește infecția cu TRT până în săptămâna 11 când apare un trend ascendent al titrului de anticorpi umorali specifici TRT ce înregistrează un vârf în săptămâna 13 (de peste 38 mai mare decât pragul de pozitivitate al testului), după care răspunsul umoral scade până la finalul perioadei analizate (fig.7.25).

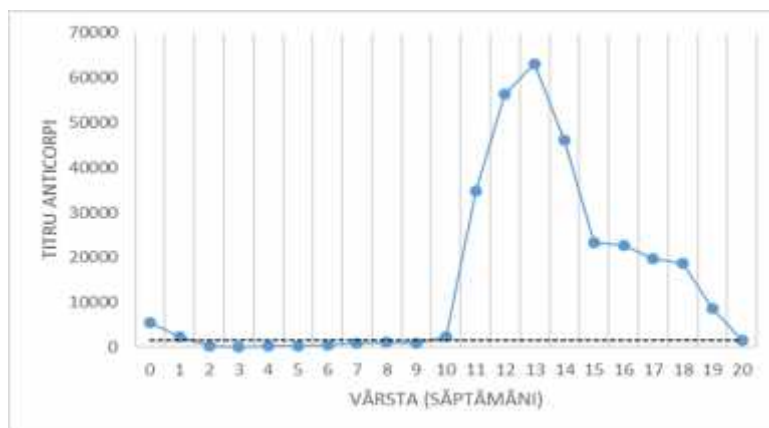


Fig.7.25. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 1) la Ferma 6
Fig. 7.25. The dynamics of the humoral immune response to TRT (first screening) in Farm 6

La această serie la intervalul de vârstă 11-13 săptămâni au fost recoltate probe de tampoane traheale (30 de probe, câte 10 de la fiecare hală: Hala C13, C17, A2) care au fost examinate ulterior din punct de vedere genetic. Rezultatele furnizate utilizând real time PCR a indicat identificarea virusului TRT serotipul B în 28 de eşantioane din cele 30 examinate.

Al doilea screening

Pentru această etapă a fost prelevat un număr de 252 probe de sânge recoltat de la aceeași curcani crescuți într-un țarc separat de efectivul din hală (A2), în fiecare săptămână câte 12 probe de la săptămâna 1 de viață până la săptămâna 20, plus la vârsta de o zi.

Tabelul 7.17/Table 7.17

Protocol imunizare Ferma 6 (2)
Immunization protocol at Farm 6 (2)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
48 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
75 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
104 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

Comparativ cu screeningul precedent, în această etapă a cercetărilor s-a optat pentru un protocol de imunizare specifică TRT ce a constatat în administrarea a cinci imunizări active pornind din incubație, ultimul rapel a fost efectuat la vârsta de 104 zile, iar biopreparatul imunologic comercial utilizat a fost același (tabelul 7.17.).

Cinetica anticorpilor specifici ne-a indicat valori sub pragul de pozitivitate al kitului comercial până în săptămâna 9, după care avem un vârf în săptămâna 15 ce corespunde activității virusului sălbatic, după care concentrația anticorpilor urmează o curbă descendentă până la finalul experimentului (fig. 7.26).

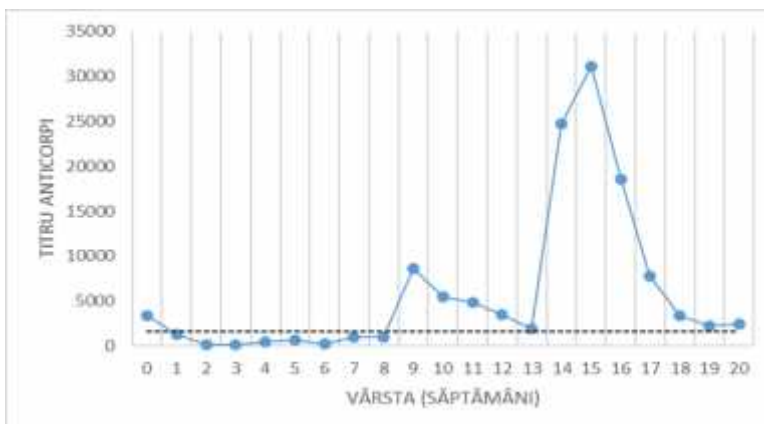


Fig.7.26. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 2) la Ferma 6
Fig. 7.26. The dynamics of the humoral immune response to TRT (second screening) in Farm 6

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

În această etapă a cercetărilor, din cauza intensificării simptomelor respiratorii la intervalul de vârstă de 11-13 săptămâni s-au recoltat probe de tampoane traheale, și anume 30 de probe (câte 10 probe din halele C13, C17 și A2). Probele au fost testate în vederea identificării materialului genetic viral, iar rezultatele furnizate la real time PCR au dus la identificarea virusului rinotraheitei curcilor (TRT), subtipul B în 28 din cele 30 de probe testate.

Al treilea screening

În acest experiment s-a prelevat un număr de 252 de probe de sânge de la o singură hală (A4) și de la aceiași indivizi în fiecare săptămână începând de la săptămâna 1 până la săptămâna 20, inclusiv în incubație. Pentru această etapă a cercetărilor s-a utilizat aceeași schemă de imunizare specifică contra TRT ca și la ancheta serologică precedentă ce cuprinde trei imunizări succesive din incubație și până la vârsta de 104 zile.

Dinamica cuantificării imunității specifice umorale pentru TRT în această etapă indică absența prezenței virusului sălbatic, nivelurile cuantificate fiind înregistrate mult sub pragul de pozitivitate validat prin testul ELISA utilizat (fig. 7.27). Totuși, hibridii de curcă supuși testului vin încă din incubație cu un bagaj consistent de anticorpi maternali care, însă scad sub nivelul de pozitivitate începând cu săptămâna a doua a testărilor efectuate.



Fig.7.27. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 3) la Ferma 6
Fig. 7.27. The dynamics of the humoral immune response to TRT (third screening) in Farm 6

Această serie de creștere a fost una în deplină liniște epidemiologică în ceea ce privește TRT, ceea ce a dus la avantaje financiare la sacrificare reprezentate printr-un randament foarte bun de creștere precum și de pierderi reduse prin mortalitate înregistrate la vârste costisitoare din punct de vedere economic.

Dacă se efectuează o analiză comparativă a valorile titrurilor TRT înregistrate la toate cele trei perioade de studiu nu se remarcă o tendință comună, observându-se mari probleme începând cu vârsta de 11 săptămâni la curcanii din screeningul 1 care au continuat până aproape de sacrificare, în schimb la curcanii din al doilea screening problemele cu sușa sălbatică de TRT au apărut din săptămâna 14 și au fost la un nivel

mult mai redus comparativ cu hibrizii de curcă din prima etapă a cercetărilor (fig.7.28).

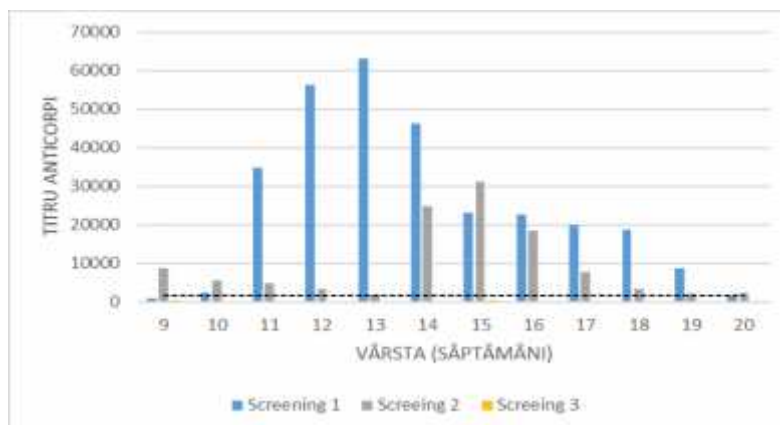


Fig. 7.28. Cinetica anticorpilor anti-TRT la toate cele trei screeninguri efectuate la Ferma 6
Fig. 7.28. The kinetics of anti-TRT antibodies to all three screenings performed in Farm 6

Dacă se efectuează o evaluare a eficacității protocolului de imunizare utilizat raportat la situația epidemiologică identificată dar și la diagnosticul cert utilizând examene complexe ce oferă rezultate de finețe, se poate afirma în această cercetare că utilizarea unei scheme de vaccinare ce cuprinde 5 imunizări active este cu mult superioară unei scheme ce utilizează doar două imunizări specifice și acelea efectuate până la vârsta de 21 de zile. Dacă se ia în calcul tipul de eșantion investigat se observă că atunci când se utilizează indivizi ce provin din hale diferite, incidența TRT cuantificată prin nivelul de anticorpi umorali este cu mult mai crescută decât atunci când eșantionul este format din indivizi diferiți dar care aparțin aceleiași hale de creștere. Practic, fiind vorba de aceeași hală de creștere, adică aceleași condiții tehnologice deci uniformitate, corelat cu faptul că, de regulă, în cazul hibrizilor de carne sistemul imunitar nu excelează deoarece toată concentrarea genetică în vederea obținerii unor astfel de produși s-a focusat pe realizarea unui spor cât mai bun se poate extrapola și se poate trage și concluzia că variabilitatea răspunsului imun în cadrul halei de creștere înregistrează valori sensibil egale din punct de vedere statistic.

Dacă se face o analiză a indicatorului epidemiologic mortalitate la cele trei serii de curcani ce au făcut parte din cercetările efectuate se poate remarca că acest indicator a înregistrat valori peste cele stabilite în ghidul de creștere mai ales la primele două perioade de analiză la vârstele țintă (fig.7.29).

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

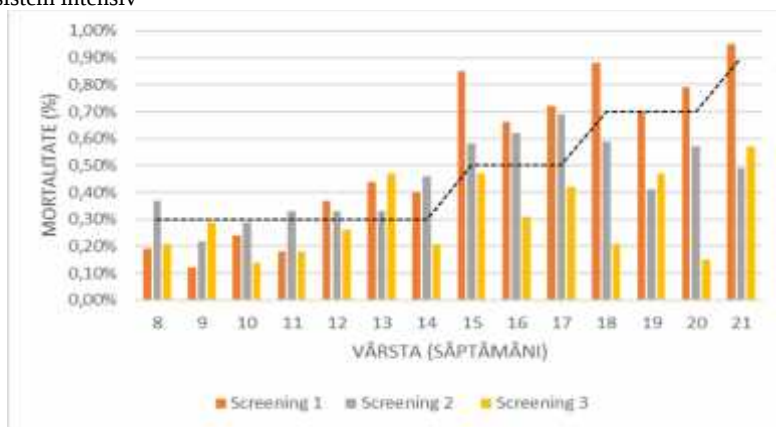


Fig. 7.29. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Ferma 6
Fig. 7.29. The evolution of mortality compared to user growth guide in Farm 6

Rezultate și discuții privind ORT obținute la Ferma 6 (Sighișoara)

Primul screening

Pentru această primă etapă a cercetărilor au fost prelevat un număr de 210 probe de sânge de la curcani care au fost crescuți în trei spații diferite, respectiv halele A2, C13 și C17. Hibrizii de curcă care au participat la cercetare nu au fost imunizați anterior împotriva ORT.

Cinetica anticorpilor specifici ce apar în infecțiile ORT la curcani indică o lungă perioadă de liniște epidemiologică pe mai toată perioada de creștere și îngrășare. Totuși, începând cu vârsta de 17 săptămâni titrul acestor anticorpi crește mult peste nivelul de pozitivitate validat prin metoda de testare (fig.7.30). Acest fenomen poate fi explicat prin creșterea presiunii microbiologice spre sfârșitul perioadei de îngrășare dar și prin faptul că această creștere intrigantă apare după o altă explozie umorală specifică TRT identificată și prin teste genetice (RT-PCR) care a pregătit terenul pentru multiplicarea necontrolată a bacteriei *Ornitobacterium rinotracheale*.



Fig. 7.30. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 6
Fig. 7.30. The dynamics of ORT antibodies (screening 1) at the Farm 6

Al doilea screening

Pentru această etapă a cercetărilor întreprinse s-a prelevat un număr de 252 probe de sânge de la hibridii de curcă ce au populat o singură hală (A2) și au fost repartizați într-un țarc separat de restul halei. Au fost recoltate în fiecare săptămână câte 12 probe începând de la săptămâna 1 până la 20, inclusiv la ieșirea din incubație.

La această serie nu au fost administrate tratamente specifice antimicrobiene pentru ORT. Cu toate că nu au fost înregistrate probleme medicale care să fie atribuite infecțiilor cu ORT s-a recurs la același protocol ca în celelalte ferme și s-au recoltat și probe de tamponare traheale care s-au dovedit a fi negative la ORT. În schimb, examenele bacteriologice efectuate pe probe de trahee și pulmoni recoltate la vârsta de 17 săptămâni au identificat ORT subtipurile A și I.

Dinamica anticorpilor specifici ORT indică o zestre de anticorpi maternali consistentă, dar care dispare după doar o săptămână, după care concentrația acestora se menține sub pragul de pozitivitate al testului utilizat, până la sfârșitul perioadei analizate (fig.7.31).



Fig. 7.31. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Ferma 6

Fig. 7.31. The dynamics of ORT antibodies (second screening) at the Farm 6

Al treilea screening

În această etapă a cercetărilor s-a prelevat un număr de 252 probe de sânge de la o singură hală (A4) de la aceiași indivizi repartizați într-un țarc separat de restul halei. În fiecare săptămână câte 12 probe de la săptămâna 1 până la 20, plus la vârsta de o zi.

Cinetica anticorpilor anti-ORT în această etapă a cercetărilor debutează cu un răspuns specific furnizat de anticorpii maternali foarte slab care continuă în aceeași manieră, până în săptămâna 14 când crește peste limita de pozitivitate a testului utilizat, însă nu la titruri exacerbate, după care se instalează un trend descendent în mare parte progresiv până la finalul desfășurării cercetărilor (fig.7.32).

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

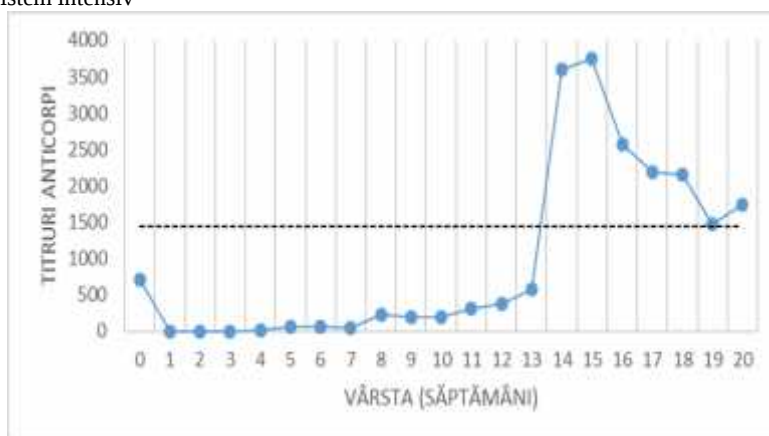


Fig. 7.32. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Ferma 6
Fig. 7.32. The dynamics of ORT antibodies (third screening) at the Farm 6

Dacă se compară intensitatea cineticii imunității umorale anti-ORT se observă că nivelurile concentrației cele mai crescute și cele mai intense sunt înregistrate la primul screening serologic efectuat. Totodată se constată că trendurile TRT și ORT sunt similare ceea ce demonstrează că implicarea mecanismului patogenetic a făcut ca dezvoltarea patologică a ORT să fie posibilă consecutiv infecției TRT (fig.7.33).

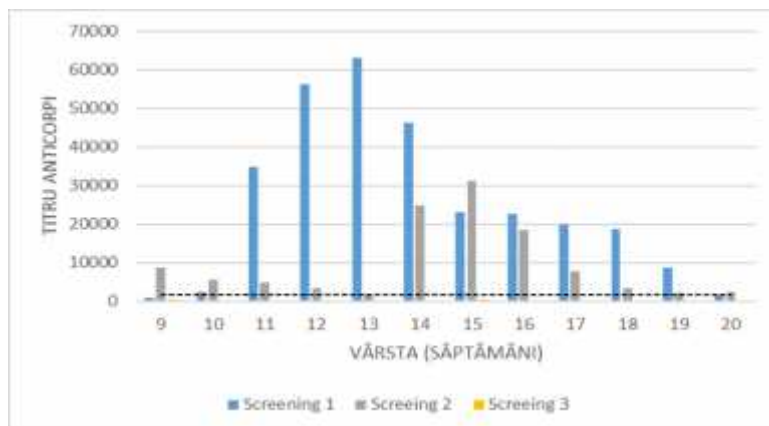


Fig. 7.33. Cinetica anticorpilor anti-ORT la cele trei screeninguri efectuate la Ferma 6
Fig. 7.33. The kinetics of ORT antibodies to all three screenings performed in Farm 6

Sinergismul TRT, ORT și alte bacterii la Ferma 6

În cadrul acestei ferme unde presiunea microbiologică este mai redusă comparativ cu alte locații nu s-au constatat multiple incidente microbiologice. Cu toate acestea, la această fermă se observă foarte bine cum răspunsul imun umoral ORT îl urmează întocmai pe cel TRT ceea ce confirmă sinergismul dintre cele două infecții și cum rinotraheita infecțioasă a curcilor se complică frecvent bacterian, în principal cu ORT.

În plus, pe lângă ORT, s-a identificat și un nivel alarmant de *Escherichia coli* care s-a dezvoltat ca și entitate microbiană patologică pe fondul creerii unui dezechilibru datorat infecției cu virusul TRT.

7.3.4. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibridii de curcă la ferma Romad Otis

A patra fermă la care s-au efectuat anchete serologice a fost Ferma Romad Otis. Această facilitate este o fermă mixtă, în care se face atât creșterea cât și îngrășarea hibridilor de curcă.

Primul screening

Au fost prelevate un număr de 210 probe de sânge de la cele două vârste existente în fermă. De la fiecare vârstă a fost aleasă o hală de creștere (Hala nr.1 și 3) din care s-au prelevat câte 10 probe o dată la 2 săptămâni.

Tabelul 7.18/Table 7.18

Protocol vaccinare curcani Romad Otis (1) Vaccination protocols of turkeys in Romad Otis (1)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (Incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 de zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
46 de zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

La această fermă s-a instaurat un protocol de imunoprofilaxie specifică, concretizat într-o schemă de vaccinare contra TRT (tabelul 7.18), ce a constat în administrarea preparatului imunologic Aviffa Rti (Merial) încă din incubație, apoi la vârsta de 21 de zile cu rapel la 46 de zile.

În dinamica răspunsului imun specific TRT se poate observa că există un nivel crescut de anticorpi preluat prin imunitatea maternală, dar care scade brusc, ajungând în doar o săptămână sub nivelul pragului de pozitivitate al testului ELISA utilizat în aceste cercetări (fig.7.34). Pe parcursul perioadei analizate se constată concentrații foarte mari de anticorpi anti-TRT începând cu săptămâna 11 care fluctuează de la o recoltare la alta până la sfârșitul experimentului dar rămân totuși la niveluri superioare pragului de pozitivitate. Această fluctuație evidentă poate fi explicată prin faptul că eșantioanele recoltate săptămânal nu provin de la aceiași indivizi, dar provin de la indivizi crescuți în aceeași hală și aceeași parametri tehnologici. Nivelurile mari de anticorpi cuantificați și de peste 18 ori mai mari raportat la prag indică implicarea tulpinii virale sălbatice de virus TRT, tulpina vaccinală dând titruri sensibil mai mici iar răspunsul imun postvaccinal are o tendință clasică cu creștere la început, zonă de platou și tendință descendentă la urmă.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

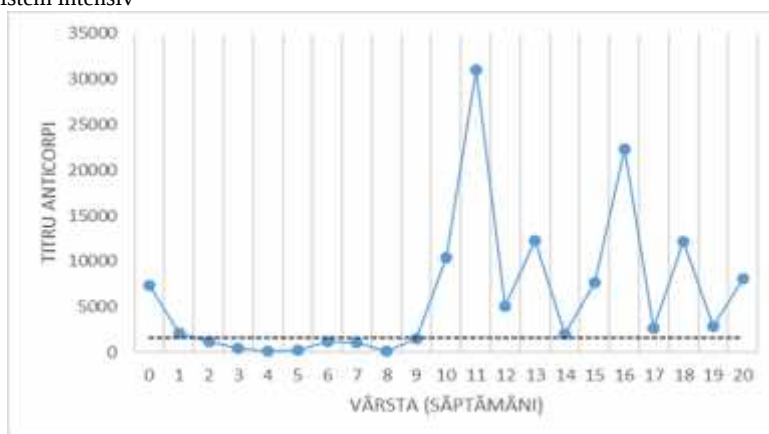


Fig. 7.34. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT la ferma Romad Otis (screening 1)

Fig. 7.34. The dynamics of the humoral immune response to TRT in Romad Otis farm (first screening)

După apariția primelor simptome respiratorii severe încă din săptămâna 9 s-au recoltat 20 de probe de tampoane traheale. Rezultatele furnizate în urma examinării prin real time PCR au dus la identificarea virusului rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) în toate probele examinate.

Al doilea screening

Pentru această anchetă serologică au fost prelevate săptămânal, din aceeași locație (hala nr.6) un număr de 252 probe de sânge. Eșantioanele de sânge au fost prelevate de la aceeași indivizi care au fost repartizați într-un țarc separat de restul halei de creștere, dar care au beneficiat de aceleași condiții tehnologico-sanitare ca și restul hibrizilor de curcă din același adăpost.

Tabelul 7.19/Table 7.19

**Protocol imunizare Romad Otis (2)
Immunization protocol at Romad Otis (2)**

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
48 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
75 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
104 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

Pentru această etapă s-a recurs la un protocol de imunizare ce cuprinde o schemă ce presupune 5 administrări de preparat comercial Aviffa Rti (Merial) începând din incubație și până la vârsta de 104 zile (tabelul 7.19). S-a recurs la acest protocol în foarte mare măsură datorită situației epidemiologice foarte periculoasă care s-a instaurat la seria precedentă luată în studiul nostru de cercetare.

Dinamica anticorpilor anti-TRT înregistrează o creștere semnificativă peste pragul de pozitivitate al kitului utilizat începând cu săptămâna 11, după care urmează o curbă descendentă până spre sfârșitul perioadei analizate când concentrațiile cresc într-un ritm exploziv ajungând în săptămâna 20 la valori de aproape 20 de ori mai mari raportat la nivelul de pozitivitate (fig.7.35).

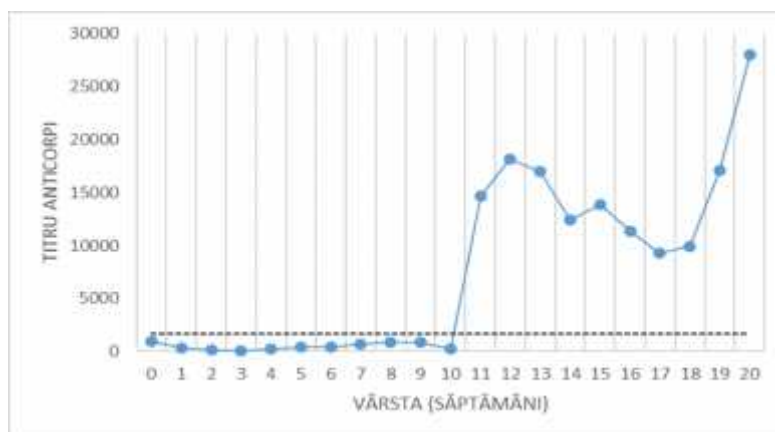


Fig. 7.35. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT la ferma Romad Otis (screening 2)

Fig. 7.35. The dynamics of the humoral immune response to TRT in Romad Otis farm (second screening)

Cu toate că rezultatele evaluării imunității umorale pentru TRT ne-a indicat prezența virusului sălbatic prin titrurile înregistrate, atât clinic unde nu au apărut semne respiratorii deosebite cât și din punct de vedere al diagnosticului genetic prin RT-PCR unde probele testate nu au identificat prezența TRT.

Al treilea screening serologic

Pentru această etapă a cercetărilor s-a recoltat un număr de 252 de probe de sânge. Eșantioanele de sânge au fost prelevate de la aceiași indivizi care au fost repartizați într-un țarc separat de restul hălei de creștere, dar care au beneficiat de aceleași condiții tehnologico-sanitare ca și restul hibrizilor de curcă din același adăpost.

Tabelul 7.20/Table 7.20

**Protocol imunizare TRT la Romad Otis (3)
Immunization protocol for TRT at Romad Otis (3)**

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
58 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
80 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
108 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Ca și la seria precedentă evaluată din această fermă s-a optat tot pentru un protocol de imunizare ce cuprinde o schemă cu cinci imunizări active pentru TRT utilizând același biopreparat comercial și aceeași cale de administrare (tabelul 7.20.). Totuși, diferența a constat în alegerea în această etapă a unor vârste diferite la care s-au efectuat ultimile trei imunizări comparativ cu seria de la screeningul precedent.

Cinetica anticorpilor specifici anti-TRT s-a menținut la valori constante până la vârsta de 11-12 săptămâni când s-au înregistrat concentrații foarte mari, de aproape 29 de ori mai mari decât valorile pragului de pozitivitate validate de testul utilizat, urmând ca spre sfârșitul perioadei luate în studiu concentrația de anticorpi TRT să urmeze un trend descendent (fig.7.36).

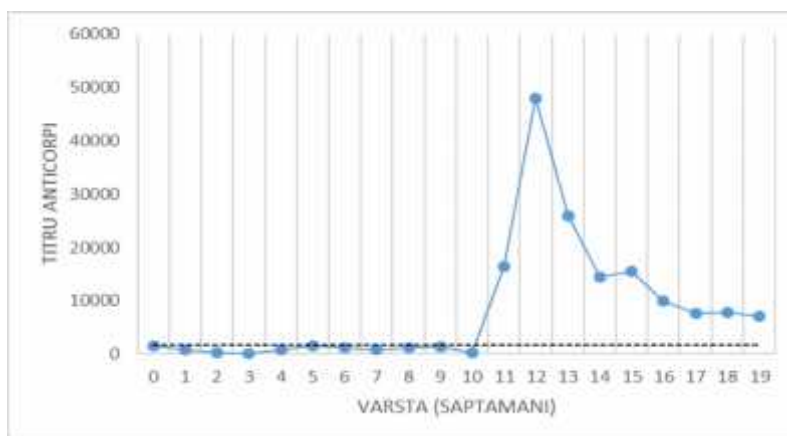


Fig. 7.36. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT la ferma Romad Otis (screening 3)

Fig. 7.36. The dynamics of the humoral immune response to TRT in Romad Otis farm (third screening)

La vârstele de 5 și 10 săptămâni odată cu intensificarea semnelor respiratorii în fermă s-au recoltat câte 20 de probe ce au constat în tampoane traheale. Rezultatele furnizate în urma utilizării testului RT-PCR au indicat absența virusului sălbatic la probele recoltate la vârsta de 5 săptămâni, în timp ce toate probele prelevate la vârsta de 10 săptămâni au fost pozitive, fiind identificat virusul TRT.

Dacă se compară evoluția titrurilor de anticorpi TRT de la toate cele trei screeninguri serologice efectuate nu se remarcă o tendință bine conturată. Astfel, la screeningul 1 se identifică pe durata experimentului două puseuri de TRT, în timp ce la celelalte screeninguri s-a identificat doar o singură perioadă de vârf a anticorpilor TRT (fig.7.37). O explicație a acestor rezultate diferite ar putea fi legată de proveniența probelor cercetate, deoarece la prima anchetă probele au fost prelevate de la indivizi diferiți pe toată durata studiului în timp ce la celelalte screeninguri s-au utilizat probe recoltate de la aceiași indivizi pe toată durata experimentului. În plus, o altă explicație importantă este legată de protocolul de imunizare utilizat, fiindcă la primul screening s-a optat pentru o schemă cu doar trei imunizări active în timp ce la celelalte screeninguri s-au efectuat câte cinci administrări de preparat comercial.

Așadar, în aceste condiții expuse se poate considera că utilizarea unei scheme de vaccinare cu cinci administrări este mult mai eficientă decât practicarea a doar trei vaccinări, calea de administrare neavând implicare variabilă în acest context deoarece a fost aceeași în toate anchetele efectuate.

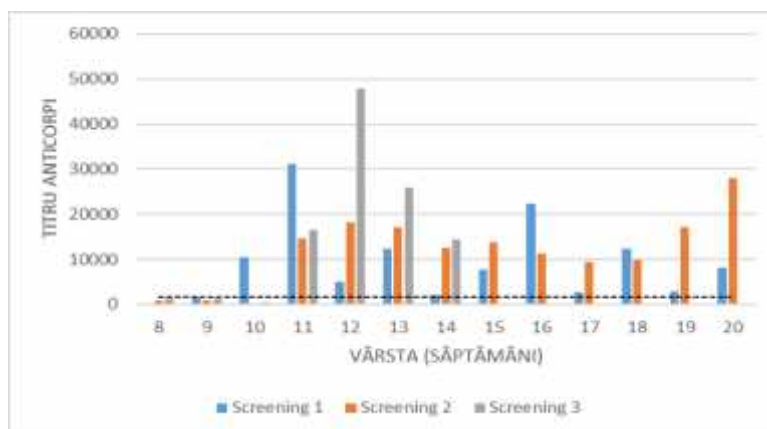


Fig. 7.37. Cinetica anticorpilor anti-TRT la toate cele trei screeninguri efectuate la Romad Otis
Fig. 7.37. The kinetics of TRT antibodies to all three screenings performed in Romad Otis

Pentru a veni în sprijinul afirmației de mai sus se poate analiza incidența indicatorului epidemiologic mortalitate, unde se constată valori peste cele înregistrate în ghidul de creștere și îngrijire doar la screeningul 1, în timp ce la celelalte anchete se observă valori ale acestui indicator foarte important sub cele ale ghidului (fig.7.38).

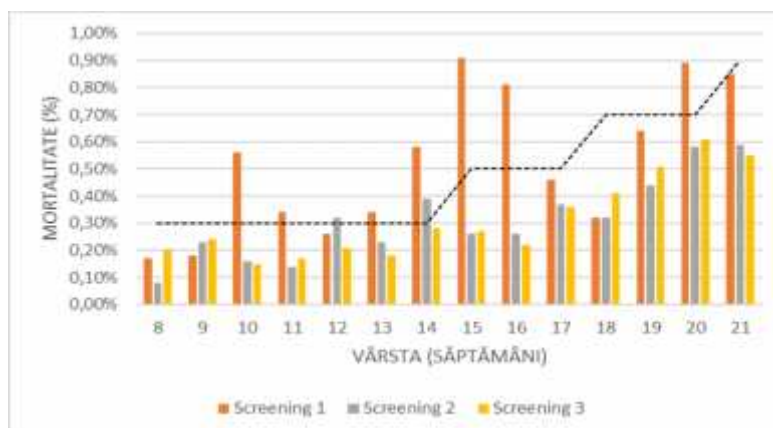


Fig. 7.38. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Romad Otis
Fig. 7.38. The evolution of mortality compared to user growth guide in Romad Otis

Rezultate și discuții privind ORT obținute la Romad Otis

Primul screening

Pentru această etapă a cercetărilor s-a prelevat un număr de 210 probe de sânge de la cele două vârste existente în fermă. De la fiecare vârstă a fost aleasă o hală (hală nr.1, 3) din care s-au prelevat câte 10 probe o dată la 2 săptămâni.

Dinamica anticorpilor TRT este foarte sinuoasă începând din săptămâna 9 cu valori foarte ridicate. Această reprezentare „în dinți de ferăstrău” indică faptul că pe

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

parcursul seriei *Ornitobacterium rinotracheale* a fost prezentă în mai multe rânduri (fig.7.39). Totodată, această sinuozitate poate fi datorată într-o oarecare măsură faptului că probele provin de la indivizi diferiți pe durata desfășurării cercetărilor, neexistând astfel o linearitate dinamică uniformă.

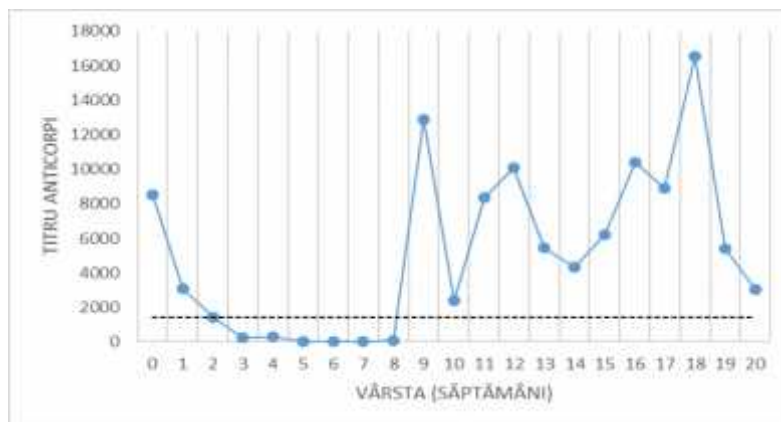


Fig. 7.39. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Romad Otis

Fig. 7.39. The dynamics of ORT antibodies (first screening) at the Romad Otis

Din screeningul prezentat în fig.7.39 se poate observa că dinamica titrurilor ORT urmează o creștere explozivă de la săptămâna 8 la 9. Această creștere explozivă se datorează și evoluției clinice a unui episod de TRT combinat cu ORT care face titrurile de anticorpi să crească de această manieră.

În urma apariției și agravării semnelor de boală respiratorie în săptămâna 9 s-au recoltat 20 de tampoane traheale care au fost testate prin RT-PCR. Rezultatele furnizate au dus la identificarea lui *Ornitobacterium rinotracheale*. În plus, pe lângă sânge și tampoane traheale, au fost recoltate și probe de trahee de la curcani cu semne de boală. Din acestea au fost izolate tulpinile A și I de ORT, urmând ca aceste tulpini care au fost tipizate să fie utilizate în vederea fabricației de autovaccinuri la seriile următoare de curcani.

Pe lângă aceste probe la vârsta de 21 de săptămâni au mai fost recoltate probe de tampoane traheale cât și de trahee de la curcanii cu boală respiratorie cronică. Rezultatul acestor probe a fost, de asemenea, pozitiv la ORT.

Al doilea screening

În această etapă a cercetărilor s-a prelevat un număr de 252 probe de sânge. Probele de sânge au fost prelevate din cadrul aceleași hale (6) de la aceiași indivizi care au fost repartizați într-un Țarc separat de restul halei de creștere, dar care au beneficiat de aceleași condiții tehnologico-sanitare ca și restul hibrizilor de curcă din același adăpost.

Protocol imunizare ORT Romad Otis (screening 2)
Immunization protocol for ORT at Romad Otis (second screening)

Vârsta (zile)	Producător	Tip vaccin	Metodă aplicare
9 zile	Vaxxinova	Autogen	s.c.
49 zile	Vaxxinova	Autogen	s.c.

Pentru prima dată de la debutul cercetărilor s-a recurs la aplicarea unui protocol de imunizare specifică ORT (tabelul 7.21), întrucât situația epidemiologică o impunea încă de la seria anterioară. S-a optat pentru o schemă de vaccinare ce a constat în administrarea de autovaccinuri în zilele 9 și 49 de viață pe cale parenterală individual la fiecare individ.

Anticorpilor specifici ORT înregistrează o creștere considerabilă începând din săptămâna 8 și se mențin la niveluri mult peste nivelul de pozitivitate stabilită de testul utilizat până la finalul perioadei de timp studiate, înregistrând ușoare scăderi în săptămânile 12 și 19 (fig.7.40).

Din cauza faptului că s-a utilizat un preparat imunologic autogen, ce conține tulpini bacteriene izolate din aceeași fermă la seria anterioară, și nu s-a optat pentru un preparat imunologic comercial nu există date concrete despre timpul de răspuns al organismului cât și despre intensitatea acestuia tradusă prin nivelul secreției de anticorpi specifici și nu se poate afirma că nivelurile crescute înregistrate în perioada 8-12 săptămâni sunt determinate de vaccinul utilizat, chiar dacă cinetica cel puțin seamănă foarte bine cu cea provocată în urma administrării unui vaccin. În plus, pentru a face o astfel de afirmație ar trebui să existe cât mai multe serii imunizate cu acest preparat care să fie analizate comparativ și să se constate instalarea unui trend asemănător postvaccinal.



Fig. 7.40. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Romad Otis
Fig. 7.40. The dynamics of ORT antibodies (second screening) at the Romad Otis

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

În intervalul de vârstă 12-14 săptămâni au fost înregistrate și primele semne clinice pentru această serie, motiv pentru care la vârsta de 13 săptămâni au fost recoltate probe de tampoane traheale pentru un examen bacteriologic, iar rezultatele au fost pozitive, fiind astfel identificate și tipizate serotipurile A și I ale lui *Ornitobacterium rinotracheale*. În afară de aceasta au mai fost izolate și alte bacterii care vor fi introduse în compoziția autovaccinului pentru seria următoare.

Al treilea screening

Pentru această etapă a cercetărilor a fost prelevat un număr de 252 probe de sânge. Probele de sânge au fost prelevate din cadrul aceleași hale (2) de la aceiași indivizi care au fost repartizați într-un țarc separat de restul halei de creștere, dar care au beneficiat de aceleași condiții tehnologico-sanitare ca și restul hibridilor de curcă din același adăpost. Protocolul de imunizare utilizat a fost identic cu cel aplicat la seria precedentă ce a făcut parte din cercetările noastre. La acest screening s-a urmărit în plus și dacă rezultatele de la seria precedentă au fost întâmplătoare sau se conturează deja un trend după imunizarea autogenă.

Dinamica anticorpilor ORT s-a intensificat brusc începând cu săptămâna 8 de viață, înregistrând un *peak* la vârsta de 10 săptămâni după care urmează o pantă descendentă până la săptămâna 17 când a crescut exponențial atingând valorile cele mai ridicate înainte de sacrificare (fig.7.41).



Fig. 7.41. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Romad Otis

Fig. 7.41. The dynamics of ORT antibodies (third screening) at the Romad Otis

S-au recoltat tampoane traheale la vârsta de 5 săptămâni chiar dacă păsările nu prezentau semne clinice iar rezultatele au fost negative pentru ORT la RT-PCR. Același procedeu s-a aplicat și la vârsta de 10 săptămâni, atunci când în hală apăruseră o intensificare a simptomelor respiratorii, însă rezultatele furnizate prin real time PCR au fost negative nefiind identificat agentul etiologic. În schimb la probele recoltate înainte de sacrificare (vârsta de 17 săptămâni) au fost pozitive la ORT, serotipul A și I, ceea ce explică și creșterea bruscă a titrurilor de anticorpi.

Sinergismul dintre TRT, ORT și alte bacterii

La această fermă se constată o presiune infecțioasă mult mai mare comparativ ce celelalte trei ferme analizate anterior (Agro Nariman, Cărpiniș și Ferma 6) iar acest fenomen a dus la identificarea mult mai multor agenți patogen exceptând TRT și ORT.

Astfel, la primul screening efectuat în această fermă, atunci când au prelevate probe la vârsta de 9 săptămâni s-au identificat în aceleași probe atât TRT cât și ORT dar și *Rimerella anapestifer*. Rezultatele probelor recoltate la vârsta de 21 de săptămâni au dus la identificarea prin PCR a ambilor agenți infecțioși studiați. În plus, rezultatele obținute în urma efectuării examenului bacteriologic au identificat ORT cu subtipurile A și I, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* precum și *Enterococcus faecalis*.

În a doua etapă a cercetărilor în urma analizării probelor prelevate la vârsta de 13 săptămâni s-au identificat următorii agenți patogeni: ORT subtipurile A și I, *Escherichia coli*, *Proteus spp.* precum și *Bordetella bronhiseptica*.

La probele prelevate de la curcanii cu vârsta de 10 săptămâni din cadrul ultimei anchete efectuate în ferma Romad Otis s-a identificat TRT subtipul B și *Rimerella anapestifer* prin examen PCR, iar la vârsta de 17 săptămâni a fost identificat ORT, serotipul A și I.

Așadar, se constată un synergism complex ce implică foarte multe specii de agenți patogeni care determină pierderi atât de ordin zootehnic și sanitar-veterinar cât și de ordin economic prin pierderile financiare înregistrate.

7.3.5. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibridii de curcă la Ferma 1

Această fermă este prima dintre cele trei ferme care au fost încadrate în studiul de la începutul capitoului pe baza a mai multor criterii în ferme cu presiune microbiană crescută.

Rezultate și discuții privind ORT obținute la Ferma 1

Primul screening

Pentru a evalua gradul de instalare a imunității TRT s-au recoltat probe de sânge de la indivizi ce au fost repartizați în opt țarcuri formate (80 de probe săptămânal, câte 10 probe/țarc) timp de 12 săptămâni consecutiv, adică un total de total 960 de probe. Probele de sânge au fost recoltate de la curcani diferiți dar care sunt identificați în cadrul aceluiași țarc.

Tabelul 7.22/Table 7.22

Protocol imunizare TRT la Ferma 1 (screening 1)
Immunization protocol for TRT at Farm 1 (first screening)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival

Pentru această fermă s-a implementat un protocol de imunizare specifică TRT ce constă într-o schemă de vaccinare ce presupune două administrări, începând din incubație și apoi în ziua 21 de viață. Acest protocol a utilizat același produs imunologic comercial care s-a utilizat în toate fermele în care s-au desfășurat cercetări pentru TRT.

Dinamica anticorpilor specifici TRT indică o curbă descendentă până în săptămâna 3 reprezentată, cel mai probabil, de dispariția anticorpilor maternali care au înregistrat în incubație o concentrație crecută (fig.7.42). Apoi, se observă în săptămâna 4 o creștere a concentrației anticorpilor TRT în urma imunizării la vârsta de 21 de zile, după care urmează un trend descendent până în săptămâna 9 când ajunge sub nivelul de pozitivitate validat al testului utilizat. Însă, din săptămâna 10 se constată o creștere explozivă a titrurilor de peste 16 ori comparativ cu pragul testului ceea ce corespunde răspunsului la tulpina sălbatică de TRT.

Clinic în hală această creștere explozivă este precedată de semne clinice respiratorii, iar creșterea explozivă a titrurilor de anticorpi este însoțită și de o creștere a procentului de mortalitate înregistrat în acest interval de vârstă.

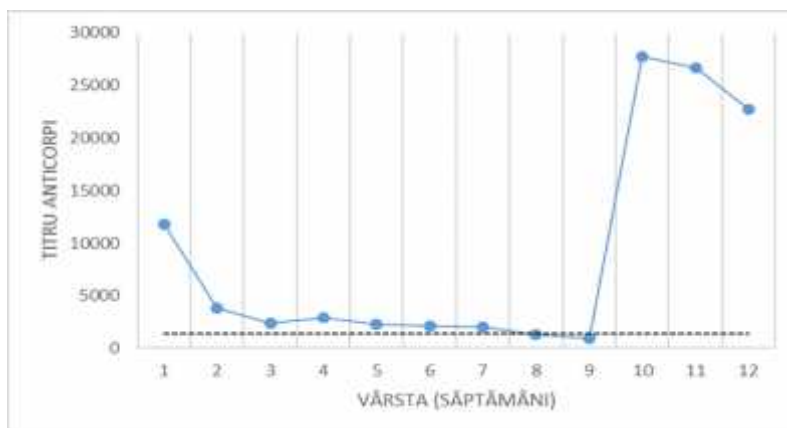


Fig. 7.42. Dinamica anticorpilor TRT (screening 1) la Ferma 1
Fig. 7.42. The dynamics of TRT antibodies (first screening) at the Farm 1

Al doilea screening

În această investigație s-au utilizat 210 probe de sânge de la cele trei vârste existente în fermă. De la fiecare vârstă a fost aleasă o hală de creștere (Hala nr.3, 9, 14) din care s-au prelevat câte 10 probe o dată la 3 săptămâni.

Protocolul de imunizare pentru TRT utilizat în această etapă a fost același cu cel implementat în primul screening, tot cu doar două imunizări active.

După dispariția imunității maternale se constată o creștere bruscă a titrurilor de anticorpi de la 6 la 7 săptămâni, la 12 săptămâni dar și la 18 săptămâni (fig.7.43). Aceste creșteri indică faptul că presiunea virală a crescut de la screeningul precedent, deoarece primul vârf de anticorpi acum este la 7 săptămâni față de prima dată, când a fost la 10 săptămâni.



Fig. 7.43. Dinamica anticorpilor TRT (screening 2) la Ferma 1

Fig. 7.43. The dynamics of TRT antibodies (second screening) at the Farm 1

În hala de creștere și îngrășare aceste intensificări ale concentrației anticorpilor TRT au coincis cu apariția primelor semne de boală respiratorie. De la aceste păsări, cu semne respiratorii au fost recoltate probe de tampoane traheale pentru examen PCR dar și probe de organe pentru examenul bacteriologic.

Rezultatele de la probele prelevate la indivizii de 8 săptămâni au fost pozitive pentru TRT, iar probele prelevate de la vârstele de 7, respectiv 9 săptămâni au fost negativ

Al treilea screening

Pentru această etapă a fost aleasă o hală din fermă (Hala nr. 9) în care s-a făcut un țarc cu 12 curcani, de la care s-au recoltat probe săptămânal timp de 21 de săptămâni. Astfel, s-au recoltat 252 de probe de sânge care au fost examinate utilizând testul ELISA.

Tabelul 7.23/Table 7.23

Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 1 (screening 3)
Immunization protocol for TRT at Farm 1 (third screening)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
54 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
97 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
119 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

Din cauza problemelor respiratorii înregistrate la seria precedentă s-a schimbat protocolul de imunizare specifică, îmbunătățind schema de vaccinare prin adăugare a încă două administrări comparativ cu seriile precedente, efectuând din incubație și până în ziua 119 cinci imunizări active cu același preparat vaccinal comercial (tabelul 7.23).

Se poate observa în cinetica anticorpilor TRT o concentrație foarte mare de anticorpi asigurați prin intermediul imunității maternale care dispar după două săptămâni, apoi apare o nouă curbă ascendentă ce depășește pragul de pozitivitate al testului încă din săptămâna 6, apoi vârfuri ale concentrației umorale se înregistrează în săptămânile 11, respectiv 15 și se menține peste acel prag până la finalul perioadei examinate având titruri descendente (fig.7.44).



Fig. 7.45. Dinamica anticorpilor TRT (screening 3) la Ferma 1

Fig. 7.45. The dynamics of TRT antibodies (third screening) at the Farm 1

Dacă se compară indicatorul mortalitate înregistrat la fiecare serie cu valorile acestui indicator recomandate în ghidul de creștere se constată că, în principal la seria ce a alcătuit screeningul doi aceste valori depășesc valorile ghidului, însă valori ridicate sunt întâlnite și la seria din prima anchetă analizată (fig.7.46). Astfel, se observă valori ridicate ale indicatorului mortalitate la primele două serii supuse

cercetării. De menționat că la aceste serii s-a efectuat o schemă de vaccinare cu doar două administrări în timp ce la screeningul 3 s-a utilizat o schemă de vaccinare cu cinci administrări, ceea ce poate susține ipoteza conform căreia cu cât numărul de vaccinări TRT este mai mare, cu atât problemele cu virusul sălbatic apar mai puțin sau rămân la un nivel la care pot fi controlate prin medicație.

Este foarte important de explicat că din cauza faptului că în cazul unor astfel de boli respiratorii așa cum este TRT se greșează și alți numeroși agenți infecțioși, fiecare participând cu „bagajul său” de patogenitate nu se poate generaliza și extrapola protocolul de imunizare de o fermă la alta și trebuie avut mereu în vedere presiunea microbiană existentă deja (amplasamente vechi, reamenajate pe care se face avicultura de minim 50 de ani și care au dimensiuni uriașe ce nu permit fizic popularea totală în același timp în toate halele), cât și presiunea microbiană ce se intensifică pe parcursul creșterii seriei (serii diferite în aceeași fermă iar prin vectorii umani, utilaje, ustensile, curenți de aer etc. îmbogățesc defavorabil halele de creștere).

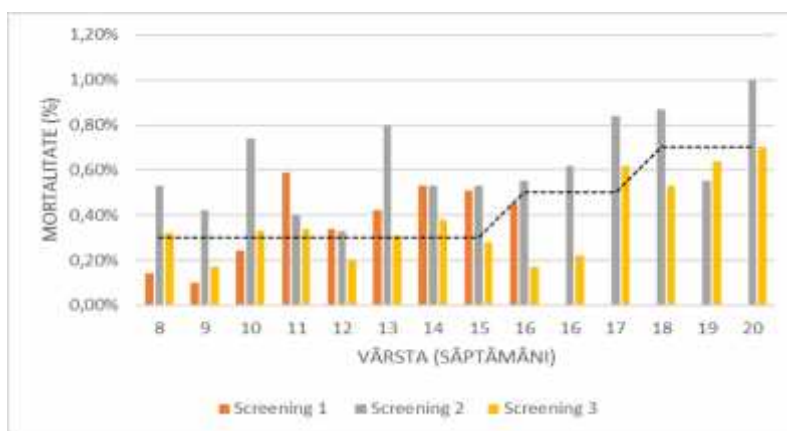


Fig. 7.46. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Ferma 1
Fig. 7.46. The evolution of mortality compared to user growth guide at Farm 1

Așadar, conform rezultatelor obținute în aceste cercetări se poate afirma că pentru controlul cât mai eficient împotriva infecțiilor TRT imunizarea este foarte importantă, dar mai ales alegerea unei scheme de imunizare cel puțin patru administrări care să mențină mortalitatea sub nivelul ghidului de creștere.

Rezultate și discuții privind ORT obținute la Ferma 1

Primul screening

Primul screening a fost efectuat atunci când a fost introdusă vaccinarea pentru ORT. Pentru a evalua gradul de instalare a imunității s-au recoltat probe de sânge de la cele opt țarcuri formate adică câte 80 de probe, respectiv 10 probe/țarc timp de 12 săptămâni la rând (un total de 960 probe). Protocolul de imunizare a fost constituit dintr-o schemă de vaccinare cu o singură administrare de vaccin autogen la vârsta de trei săptămâni, dată fiind vârsta mică de sacrificare (maxim 16 săptămâni) a acestei serii. Probele de sânge au fost recoltate de la curcani diferiți din cadrul aceluiași țarc. Totuși, față de ferma Romad Otis aici s-a utilizat un vaccin autolog produs de un alt

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv producător (Anicon) dar s-a administrat tot individual utilizând aceeași cale de administrare.

Cinetica anticorpilor ORT indică o creștere progresivă începând din săptămâna 6 și până la sfârșitul perioadei analizate (fig.7.47).

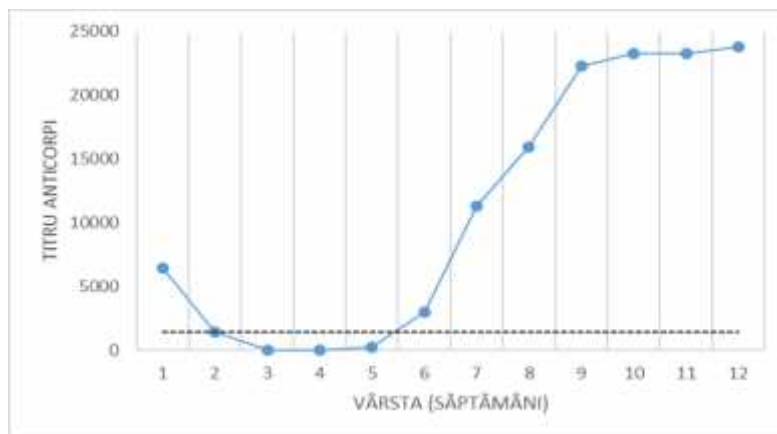


Fig. 7.47. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 1

Fig. 7.47. The dynamics of ORT antibodies (first screening) at the Farm 1

Al doilea screening

Pentru această etapă a cercetărilor au fost prelevate 210 probe de sânge de la cele trei vârste existente în fermă. De la fiecare vârstă a fost aleasă o hală (hala nr.3, 9, 14) din care s-au prelevat câte 10 probe o dată la 3 săptămâni.

Tabelul 7.24/Table 7.24

**Protocol imunizare ORT Romad Otis (screening 2)
Immunization protocol for ORT at Romad Otis (second screening)**

Vârsta (zile)	Producător	Tip vaccin	Metodă aplicare
9 zile	Vaxxinova	Autogen	s.c.
47 zile	Vaxxinova	Autogen	s.c.

Protocolul de imunizare a constat în aplicarea unei scheme de vaccinare ce a cuprins două administrări de vaccin autogen, la 9, respectiv 47 de zile individual pe cale parenterală utilizând produsul imunologic produs de Vaxxinova (tabelul 7.24).

Dinamica anticorpilor TRT ne arată un prim vârf peste pragul de pozitivitate abia în săptămâna 8 și acesta poate fi atribuit autovaccinului administrat la 47 de zile, după care se menține peste acest prag până la sfârșitul perioadei de analiză, dar se înregistrează două *peak*-uri în săptămânile 12, 17 și 20 (fig.7.48). Aceste vârfuri sunt determinate de către tulpina bacteriană sălbatică de ORT fiindcă titrurile înregistrate sunt foarte mari iar răspunsul postvaccinal este exclus să fie de o așa de mare intensitate și nici nu are cum să apară așa de târziu după imunizare și să aibă o exprimare „în dinți de ferăstrău”. În plus, aceste vârfuri serologice corespund în hală

cu episoade clinice de boală respiratorie. Acestea ar putea fi consecința unei presiuni virale cu TRT, care complicat bacterian face să crească procentul de mortalitate peste limita tehnologică admisă de ghid.

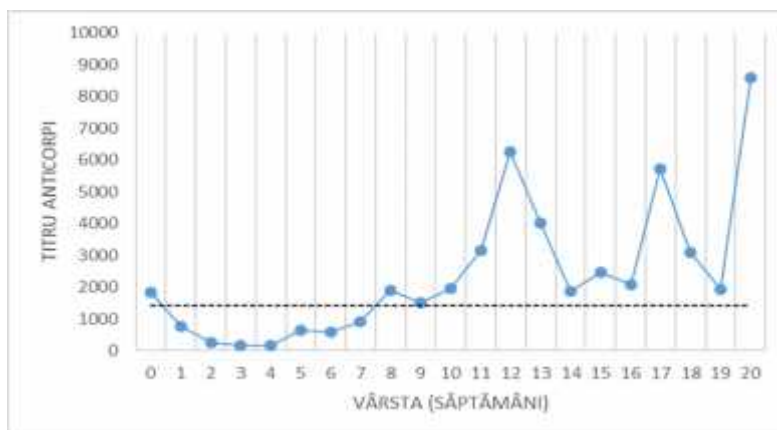


Fig. 7.48. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Ferma 1

Fig. 7.48. The dynamics of ORT antibodies (second screening) at the Farm 1

Rezultatele furnizate în urma examinării utilizând real time PCR plecând de la probele de tampoane traheale prelevate în săptămânile 7 și 8 au identificat prezența ORT în timp ce rezultatul probelor prelevate în săptămâna 9 a fost negativ.

În urma examenului bacteriologic din probe de splină rezultatul a fost negativ. Totuși la examenul bacteriologic din trahee s-a putut izola ORT.

Al treilea screening

Pentru a studia încă o dată ce se întâmplă cu statusul de sănătate al curcanilor a fost efectuat un al treilea screening. La fel ca și screeningul precedent s-a ales o hală la întâmplare (Hala 11). Probele de sânge (252) au fost prelevate de la aceiași indivizi (12 masculi) care au fost repartizați într-un țarc separat de restul halei de creștere, dar care au beneficiat de aceleași condiții tehnologico-sanitare ca și restul hibrizilor de curcă din același adăpost. Protocolul de imunizare a fost identic cu cel aplicat în ancheta serologică precedentă.

Anticorpii ORT înregistrează o creștere exponențială la vârsta de 13 și 15 săptămâni a titrurilor, urmând mai apoi o descreștere până la săptămâna 19 când cresc mult peste pragul de pozitivitate al testului utilizat (fig.7.49).

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv



Fig. 7.49. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Ferma 1
Fig. 7.49. The dynamics of ORT antibodies (third screening) at the Farm 1

Spre deosebire de precedentele două screening-uri, la ultimul se poate constata o scădere a procentului de mortalitate, ceea ce ne arată că au fost evitate complicațiile bacteriene față de seriile precedente.

Sinergismul dintre TRT, ORT și alte bacterii

La primul screening nu s-au efectuat teste complementare de laborator, fiindcă seria a fost foarte scurtă indivizii care au făcut parte din experiment fiind sacrificați începând cu vârsta de 12 săptămâni, iar la ultima serie luată în studiu situația epidemiologică nu a impus utilizarea de examene mai complexe, nefiind semnalate simptome respiratorii care să pună probleme deosebite.

În experimentul al doilea rezultatele celor 10 probe recoltate în săptămâna 8 examinate prin real time PCR au identificat atât TRT (subtipul B), cât și ORT, iar rezultatele la examenul bacteriologic din trahee a dus la izolarea ORT cât și a *Escherichia coli*.

Așadar, în această fermă se observă un synergism între infecția virală determinată de TRT care favorizează, prin acțiunea exercitată asupra hibrizilor de curcă, grefarea ORT și odată cu intensificarea semnelor clinice de boală respiratorie și slăbirea organismului gazdă se crează dezechilibre locale favorabile creșterii și dezvoltării florei microbiene oportuniste.

7.3.6. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la Ferma 2

Această fermă este a doua dintre cele trei ferme care au fost încadrate în studiul de la începutul capitolului pe baza a mai multor criterii în ferme cu presiune microbiană crescută.

Rezultate și discuții privind ORT obținute la Ferma 2

Primul screening

Pentru acest test s-au format cinci țarcuri separate (denumite Albastru, Mov, Roz, Verde și Negru), în care s-au distribuit din incubație câte 80 de hibridi de curcă în fiecare țarc și s-au recoltat săptămânal câte 50 probe de sânge (10 pentru fiecare țarc), asta însemnând un total de 1050 probe.

Tabelul 7.25/Table 7.25

Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 2 (screening 2) Immunization protocol for TRT at Farm 2 (second screening)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Cale administrare				
			Albastru	Violet	Roz	Verde	Negru
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat				-	
21 zile	Aviffa	Viu atenuat		s.c.		-	
45 zile	Aviffa	Viu atenuat	Aerosoli		Oculo-conjunctival	-	Apa de băut
75 zile	Aviffa	Viu atenuat		-		-	
111 zile	Aviffa	Viu atenuat		-		-	

În această etapă a desfășurării cercetărilor s-a utilizat un protocol de imunizare ce constă într-o schemă de imunizare activă ce utilizează același preparat imunologic comercial și constă în cinci administrări începând din incubație și până în ziua 111 de viață (tabelul 7.25). Deosebirea față de cercetările efectuate până acum constă în faptul că aici pentru fiecare lot repartizat în câte un țarc s-a utilizat o cale de administrare diferită, iar pentru lotul Verde nu s-a aplicat imunizare, el constituind și martorul negativ al testului.

Rezultatele furnizate la testul ELISA utilizat ne arată că toți curcanii au plecat din incubație cu o imunitate maternală foarte puternică, care a dispărut până în săptămâna 4 de viață, apoi apare un *peak* al concentrației de anticorpi specifici în săptămâna 10, după care cinetica umorală abordează o pantă descendentă până spre sfârșitul experimentului, când își face simțită prezența presiunea virală crescută, ce duce la creșteri de titruri TRT (fig.7.50). Foarte important în acest trial serologic este faptul că în cinetica răspunsurilor furnizate există o tendință foarte bine conturată. Aceste rezultate indică faptul că modul de administrare joacă un rol foarte important în imunoprofilaxia infecției cu virusul rinotraheitei curcilor (TRT). În acest sens, se poate observa faptul că până la vârsta de 7 săptămâni, **grupul Roz** (vaccinare oculo-conjunctivală), nivelul de anticorpi este cel mai mic (149), urmat de cel **Albastru** (aerosoli) 279, apoi **Negru** (apa de băut) 552, **Violet** (inactivat) 1454 și, în cele din urmă, grupul **Martor** al cărui titru a fost de 1948. Faptul că la țarcul martor s-a înregistrat nivelul ce mai mare al tirturilor ne arată încă o dată prezența virusului

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

sălbatic în fermă, care poate afecta efectivele nevaccinate în cazul complicațiilor bacteriene secundare. De menționat este faptul că la acest țarc și semnele clinice au fost mai evidente decât la restul țărcurilor, unde s-au aplicat vaccinul sub diverse forme de administrare.

Chiar dacă toate efectivele din cadrul țărcurilor experimentale au trecut prin infecția cu virus sălbatic, imunitatea creată în urma acestui episod durează maxim 9, 10 săptămâni, moment în care se produce o reinfectare cu virus sălbatic, care face ca titrurile de anticorpi să crească, iar la vârsta de 20 de săptămâni. Acest lucru ne demonstrează faptul că virusul în cadrul fermelor cu presiune infecțioasă ridicată a devenit endemic și în orice moment al creșterii se pot produce reinfectări la anumite perioade de timp (10 săptămâni, în cazul de față), chiar dacă să zicem efectivul a fost „**imunizat**” cu virus sălbatic.

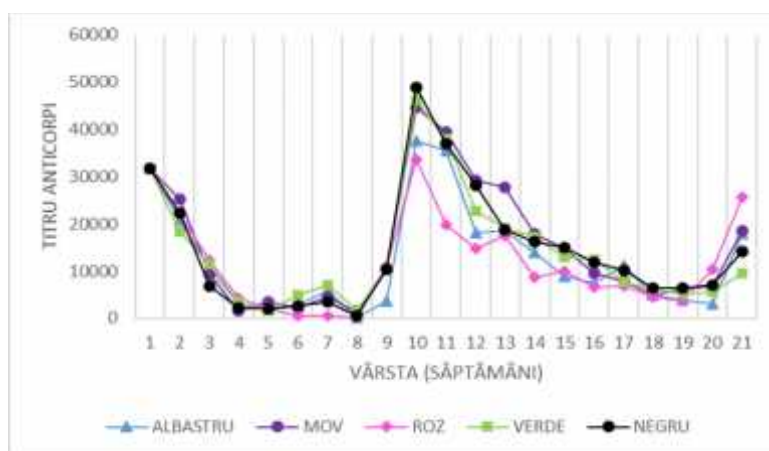


Fig. 7.50. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 2 pe grupe de curcani
Fig. 7.50. The dynamics of ORT antibodies (first screening) at the Farm 2 per turkeys groups

Pe lângă examenul serologic ELISA făcut pentru fiecare țarc, au fost trimise și tampoane traheale înainte de fiecare vaccinare contra TRT, pentru a vedea statusul înainte de vaccinare.

Tabelul 7.26/Table 7.26

Rezultate obținute RT-PCR la Ferma 2 pentru TRT(screening 1)
RT-PCR results at the farm 2 for TRT (screening 1)

Țarc nr.	Vârsta			
	21 zile	45 zile	68 zile	110 zile
ALBASTRU	Pozitiv	Negativ	Pozitiv	Negativ
VIOLET	Pozitiv	Negativ	Pozitiv	Negativ
ROZ	Pozitiv	Negativ	Pozitiv	Negativ
VERDE (C)	Negativ	Pozitiv	Pozitiv	Negativ
NEGRU	Pozitiv	Negativ	Pozitiv	Negativ

Rezultatele furnizate la real time PCR ne indică că toate probele recoltate în ziua 21 au fost pozitive, fiind identificat **subtipul B** (subtipul vaccinal, tulpina VCO 3) la toate grupele excepție făcând grupul ce constituie controlul negativ el nefiind imunizat specific, în timp ce la vârsta de 45 de zile doar acest grup a fost pozitiv la PCR (tabelul 7.26).

La vârsta de 68 de zile însă toate probele au fost pozitive la TRT, care în urma secvențierii s-a dovedit a fi **virus sălbatic de TRT** ceea ce ne explică creșterea explozivă a titrului de anticorpi la vârsta de 9 săptămâni. Faptul că procentul de mortalitate nu a crescut în această perioadă ar putea indica eficacitatea vaccinărilor multiple care limitează tulpina sălbatică.

Al doilea screening

În continuare, pentru a studia ce se întâmplă pe parcursul perioadei de creștere s-a mai efectuat un screening serologic. De data aceasta s-a ales o singură locație de creștere și îngrășare la întâmplare (Hala 11) în care s-a format un țarc cu 12 masculi de curcă cărora li s-au prelevat probe de sânge de la 0 la 20 de săptămâni, totalizând un număr de 252 probe.

Tabelul 7. 27/Table 7.27

**Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 2 (screening 2)
Immunization protocol for TRT at Farm 2 (second screening)**

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
32 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
56 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
83 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
108 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

Protocolul de imunizare care s-a utilizat în această etapă a cercetărilor a constat într-o schemă de vaccinare cu cinci administrări cu același preparat imunologic comercial care s-a utilizat până acum, începând încă din incubație și terminând în ziua 108 de viață a curcanilor (tabelul 7.27), calea de administrare aplicată fiind aceeași ca și în protocoalele precedente.

Cei 12 curcani care au făcut parte din acest experiment au avut un „bagaj” de anticorpi maternali semnificativ dar care la 21 de zile au scăzut sub pragul de pozitivitate validat de testul utilizat. În săptămâna 9 s-a observat cea mai mare concentrație de anticorpi TRT (de peste 26 de ori peste prag), după care nivelul umoral s-a redus, dar a rămas peste limita de pozitivitate până la sfârșitul cercetărilor efectuate (fig.7.51).

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv



Fig. 7.51. Dinamica anticorpilor TRT (screening 2) la Ferma 2

Fig. 7.51. The dynamics of TRT antibodies (second screening) at the Farm 2

La vârsta de 14 săptămâni au fost prelevat probe de tampoane traheale de la păsări ce prezentau semne de boală respiratorie. Rezultatul acestor probe a fost negativ pentru TRT în urma efectuării testului RT PCR. Totuși, aceste rezultate explică mecanismul patogenetic al virusului TRT care se complică bacterian statusul de sănătate al păsării. Efectivele fiind vaccinate, efectele infecției cu TRT sunt mult diminuate și astfel nici procentul de mortalitate nu a crescut mult peste limita tehnologică recomandată de ghidul de creștere și îngrășare.

Al treilea screening

Pentru a putea avea o imagine de ansamblu cât mai clară în legătură cu statusul de sănătate al curcanilor a fost efectuat un al treilea screening. La fel ca și screeningul precedent s-a ales o hală la întâmplare (Hala 14) în care s-a format un țarc cu 30 masculi cărora li s-au prelevat probe de sânge de la populare până la 20 de săptămâni, totalizând un număr de 630 probe.

Tabelul 7.28/Table 7.28

Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 2 (screening 3)
Immunization protocol for TRT at Farm 2 (third screening)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
68 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
95 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
110 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

Pentru această etapă a cercetărilor s-a utilizat un protocol de imunizare ce constă într-o schemă de vaccinare cu cinci imunizări specifice, fiind modificată doar vârsta de administrare, aceasta fiind prelungită cu câteva zile, comparativ cu screeningul precedent (tabelul 7. 28).

Dinamica anticorpilor anti-TRT s-a menținut în limite modeste până în săptămâna 9 de viață, după care se înregistrează o explozie a concentrației de anticorpi specifici, care mai apoi scade treptat până înainte de livrare când se înregistrează o nouă creștere ușoară (fig.7.52).

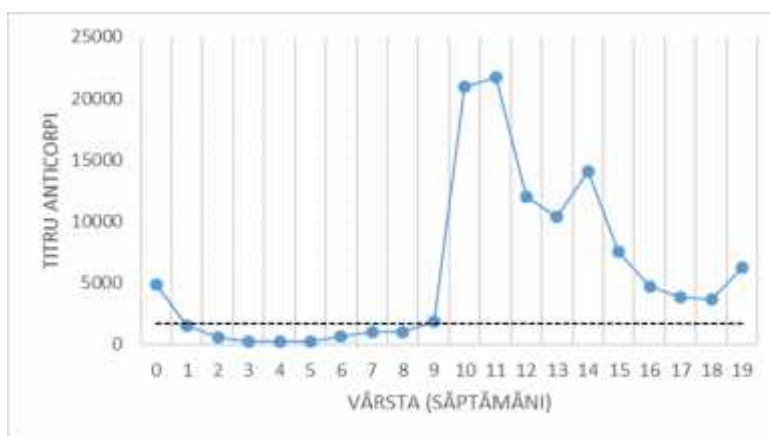


Fig. 7.52. Dinamica anticorpilor TRT (screening 3) la Ferma 2

Fig. 7.52. The dynamics of TRT antibodies (third screening) at the Farm 2

Nivelul indicatorului mortalitate nu depășește per total valoarea indicată de ghid, cu unele depășiri în intervalul 8-14 săptămâni dar care s-au recuperat până la sfârșitul experimentului (fig.7.53).

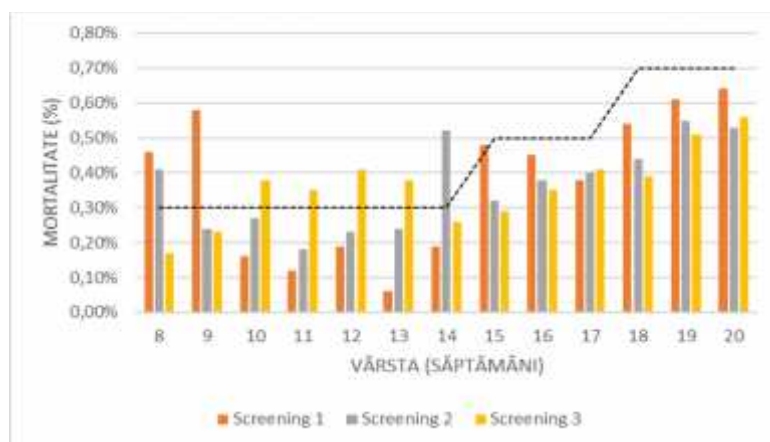


Fig. 7.53. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Ferma 2

Fig. 7.53. The evolution of mortality compared to user growth guide at Farm 2

Rezultate și discuții privind ORT obținute la Ferma 2

Primul screening

În acest screening a fost prelevat un număr de 1050 probe de sânge din Hala nr. 11, de la curcani repartizați câte 80 în fiecare țarc. Probele au fost recoltate săptămânal.

Tabelul 7.29/Table 7.29

Protocol imunizare ORT la Ferma 2 (screening 1)
Immunization protocol for ORT at Farm 2 (first screening)

Vârsta (zile)	Producător	Tip vaccin	Metodă aplicare
9 zile	Vaxxinova	Autogen	s.c.
49 zile	Vaxxinova	Autogen	s.c.

Pentru această etapă s-a implementat un protocol de imunizare specifică ce constă într-o schemă de vaccinare ce cuprinde două administrări la 9, respectiv 49 de zile de viață, utilizând un vaccin autogen aplicat pe cale subcutanată (tabelul 7.29).

Dinamica umorală specifică ORT ne indică că începând cu săptămâna de 6 de viață titrurile de anticorpi au început să crească atingând un prim vârf la săptămâna 7, apoi scad în următoarele două săptămâni, iar cresc în săptămâna 10, săptămână în care ating maximum, urmând ca apoi să se mențină și cu o tendință de creștere pe final (fig.7.54).



Fig. 7.54. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 2
Fig. 7.54. The dynamics of ORT antibodies (first screening) at Farm 2

Pe lângă probele de sânge au fost recoltate și tampoane trahele la vârsta de 21, 45, 68 și 110 zile.

Rezultate obținute RT-PCR la Ferma 2 pentru ORT (screening 1)
RT-PCR results at the farm 2 for ORT (Screening 1)

Țarc nr.	Vârsta			
	21 zile	45 zile	68 zile	110 zile
ALBASTRU	Negativ	Pozitiv	Pozitiv	Pozitiv
VIOLET	Negativ	Pozitiv	Pozitiv	Pozitiv
ROZ	Negativ	Pozitiv	Pozitiv	Pozitiv
VERDE (C-)	Negativ	Pozitiv	Pozitiv	Pozitiv
NEGRU	Negativ	Pozitiv	Pozitiv	Pozitiv

După cum se poate vedea din tabelul 7.30, probele recoltate și examinate au fost negative în fiecare țarc doar la vârsta de 21 de zile, însă după această vârstă toate probele examinate au fost pozitive. Acest lucru demonstrează, în aceste condiții de experiment, faptul că începând cu vârsta de 7 săptămâni, presiunea bacteriană crește. Acest lucru coincide și clinic cu apariția semnelor specifice de boală respiratorie în hală.

Al doilea screening

Pentru a studia evoluția ORT în această fermă a mai fost făcut un screening pe parcursul celor 20 de săptămâni de viață. Astfel că s-a format un țarc în Hala nr. 11, unde s-au introdus 12 curcani, de la care s-au prelevat probe de sânge în fiecare săptămână de viață. Schema de vaccinare folosită a fost aceeași ca și în screeningul precedent, doar că au fost introduse tulpini noi de ORT.

Bagajul maternal este foarte consistent din incubație dar scade rapid sub pragul de pozitivitate impus de producătorul testului. Totuși, începând cu săptămâna 7 titrurile ORT cresc, înregistrând un maxim în săptămâna 10, după care se instalează o tendință descendentă până la finalul cercetărilor efectuate (fig. 7.55).



Fig. 7.55. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Ferma 2
Fig. 7.55. The dynamics of ORT antibodies (second screening) at Farm 2

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

În săptămâna 14 s-au recoltat probe de tampoane traheale ce au fost examinate prin RT-PCR, însă rezultatele au fost negative. Totuși au fost recoltate și probe pentru examenul bacteriologic iar rezultatele au indicat izolarea ORT subtipurile A și I.

Al treilea screening

Pentru a studia încă o dată ce se întâmplă cu statusul de sănătate al curcanilor a fost efectuat un al treilea screening. La fel ca și screeningul precedent s-a ales o hală la întâmplare (Hala 14) în care s-a format un țarc unde s-au introdus 30 de masculi cărora li s-au prelevat probe de sânge de la 0 la 20 de săptămâni, totalizând un număr de 630 probe. Schema de vaccinare folosită a fost una similară cu precedentele imunizări ce au constat în două administrări.

De această dată nu mai este prezentă o imunitate maternală, însă începând cu săptămâna 8 titrurile TRT cresc peste pragul de pozitivitate validat prin testul utilizat, înregistrează un vârf în săptămâna 10 după care descrie o curbă descendentă până la săptămâna 18 când cresc din nou până la sfârșitul perioadei examinate (fig.7.56).

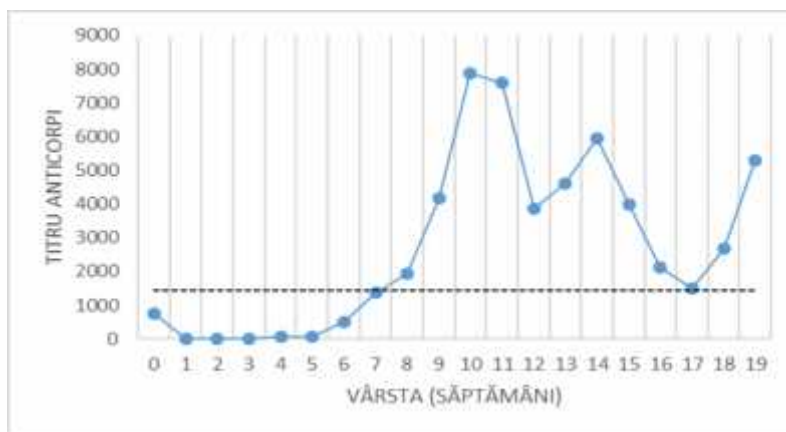


Fig. 7.56. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Ferma 2
Fig. 7.56. The dynamics of ORT antibodies (third screening) at Farm 2

La vârsta de 8 săptămâni au apărut primele semne respiratorii specifice. Astfel, au fost recoltate probe de tampoane traheale pentru examenul PCR. Rezultatele furnizate au identificat prezența ORT în hala 10 în 100% din probe, în hala 14 la 50% din probe, ambele la vârsta de 64 de zile, iar la vârsta de 57 de zile rezultatele au identificat prezența ORT în hala 9 în 100% dintre probele examinate.

Sinergismul TRT, ORT și alte bacterii

În aceste experimente desfășurate la nivelul Fermei 2 de pe platforma de la Codlea (jud. Brașov) sinergismul a fost evaluat, iar rezultatele au indicat prezența simultană a TRT și ORT în aceeași serie de creștere și îngrășare ceea ce demonstrează că cele două infecții evoluează consecutiv, după invazia TRT se crează teren favorabil pentru dezvoltarea ORT.

7.3.7. Rezultate și discuții privind implementarea unei metodologii de profilaxie specifică cu privire la infecțiile respiratorii determinate de TRT și ORT la hibrizii de curcă la Ferma 5

Această fermă este ultima fermă care a fost încadrată în studiul de la începutul capitolului pe baza a mai multor criterii, ca fiind fermă cu presiune microbiană crescută.

Rezultate și discuții privind ORT obținute la Ferma 5

Primul screening

Pentru această etapă a cercetărilor a fost prelevat un număr de 210 probe de sânge de la cele trei vârste existente în fermă. De la fiecare vârstă a fost aleasă o hală (Hala nr.6B, 2B, 3B) din care s-au prelevat câte 10 probe o dată la 3 săptămâni.

Tabelul 7.31/Table 7.31

**Protocol imunizare TRT la Ferma 5 (screening 1)
Immunization protocol for TRT at Farm 5 (first screening)**

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival

În aceste cercetări s-a instaurat un protocol de imunizare specifică ce constă în aplicarea unei scheme de vaccinare ce cuprinde doar două imunizări începând din incubație și terminând la 21 de zile, utilizând același preparat comercial pentru prevenirea TRT care s-a utilizat în toate fermele luate în studiu (tabelul 7.31).

Din cinetica rezultatelor indicate la ELISA se poate observa cum nivelul titrurilor de anticorpi cunoaște o creștere explozivă la săptămâna 8, apoi scade, după care crește la 10 săptămâni iar apoi la 20 de săptămâni tendința înregistrată a fost tot de creștere (fig.7.57). Aceste vârfuri ne pot indica o circulație a virusului sălbatic TRT.



**Fig. 7.57. Dinamica anticorpilor TRT (screening 1) la Ferma 5
Fig. 7.57. The dynamics of TRT antibodies (first screening) at Farm 5**

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Pentru prima dată la această serie au fost recoltate 10 probe de tamponare traheale la vârsta de 5 săptămâni, în scopul de a verifica statusul imunologic al păsărilor. Rezultatul furnizat la RT-PCR nu a dus la identificarea TRT. La 9 săptămâni de viață au apărut primele semne de boală respiratorie, drept pentru care au fost recoltate probe de tamponare traheale. Rezultatele au indicat, din nou, că au fost negative la TRT.

Al doilea screening

Pentru acest experiment au fost prelevate 252 probe de sânge. Probele au fost recoltate săptămânal de la 2 hale diferite (Hala nr.5D, 2D), de vârste diferite (diferența de vârstă de o săptămână).

Tabelul 7.32/Table 7.32

Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 5 (screening 2)
Immunization protocol for TRT at Farm 5 (second screening)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
48 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
75 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
104 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli

Date fiind problemele respiratorii întâmpinate la seria precedentă s-a implementat un protocol de imunizare activă ce cuprinde o schemă de vaccinare cu cinci administrări, începând din incubație și terminând la vârsta de 104 zile care utilizează același preparat imunologic viu-atenuat comercial care s-a utilizat până în prezent.

La fel ca la seria precedentă se pot observa cele două perioade de creștere ale anticorpilor și anume săptămâna 10 și săptămâna 18 (fig.7.58). Diferența față de seria precedentă este că nivelul maxim al titrului de anticorpi este ceva mai mic (de la 37205 la 28505) și mai important este faptul că procentul de mortalitate total a fost mai scăzut în perioada critică (săptămâna 7 - 14), aceasta fiind una la nivelul limitei tehnologice.

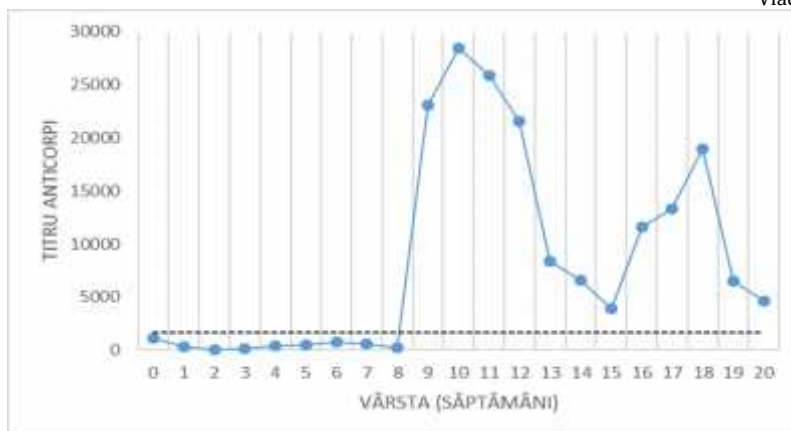


Fig. 7.58. Dinamica anticorpilor TRT (screening 2) la Ferma 5
Fig. 7.58. The dynamics of TRT antibodies (second screening) at Farm 5

Dat fiind faptul că screeningul a fost făcut pe indivizi diferiți și nu într-un țarc s-a încercat în timpul apariției semnelor clinice de boală respiratorie să se facă un țarc cu păsări afectate. De la acestea au fost prelevate probe de sânge din momentul apariție semnelor clinice și patru săptămâni după trecerea acestora.

Tabelul 7.33/Table 7.33

Rezultate TRT pentru ELISA și PCR la Ferma 5 (screening 2)
Results for TRT for ELISA and PCR at Farm 5 (second screening)

Vârsta (săptămâni)	Titru ELISA (OD 405nm)	Rezultat RT-PCR
9	203	-
10	35454	Pozitiv (Tip B)
11	27256	Negativ
12	20357	Negativ
13	23769	Negativ

Din tabelul 7.33 se poate observa cum de la săptămâna 9 la 10 are loc o creștere exponențială a titrurilor de anticorpi de circa 175 ori (de la 203 la 35454). Acest lucru ne demonstrează faptul că virusul TRT a fost la baza semnelor respiratorii, dovadă stă și rezultatul PCR de la săptămâna 10 (Pozitiv / tip B).

Al treilea screening

Au fost prelevate un număr de 252 probe de sânge de la o singură hală (3B – țarc 12 capete), în fiecare săptămână câte 12 probe de la săptămâna 1 până la 20, plus la vârsta de o zi. La acest screening s-a utilizat pentru prima dată o schemă de vaccinare ce presupune șase administrări contra TRT care debutează din incubație iar ultima administrare a fost la vârsta de 118 zile (tabelul 7.34).

Tabelul 7.34/Table 7.34

Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 5 (screening 2)
Immunization protocol for TRT at Farm 5 (third screening)

Vârsta (zile)	Vaccin	Tip vaccin	Sușă vaccinală	Metodă aplicare
Ziua 1 (incubație)	Aviffa	Viu atenuat	B	Aerosoli
21 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
35 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
69 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
97 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival
118 zile	Aviffa	Viu atenuat	B	Oculo-conjunctival

La fel ca și în precedentele două screening-uri se pot observa cele 2 vârfuri de anticorpi (săptămâna 7 și 12) și o creștere ușoară spre final la 18 săptămâni (fig.7.59).



Fig. 7.59. Dinamica anticorpilor TRT (screening 3) la Ferma 5
Fig. 7.59. The dynamics of TRT antibodies (third screening) at Farm 5

Din punct de vedere clinic, la apariția primelor semne de boală respiratorie au fost recoltate probe de tamponare traheale ce au fost examinate utilizând tehnica real time PCR. Însă, rezultatele nu au dus la identificarea TRT din probele examinate.

Dacă se analizează indicatorul mortalitate la cele trei serii studiate comparativ cu ghidul de creștere și îngrășare se poate observa o mortalitate crescută înregistrată în special la prima serie, unde s-a utilizat o schemă de vaccinare cu doar două imunizări, dar după săptămâna 10 se constată valori ale indicatorului mortalitate sub valorile indicate de ghid cu foarte puține excepții (fig.7.60).

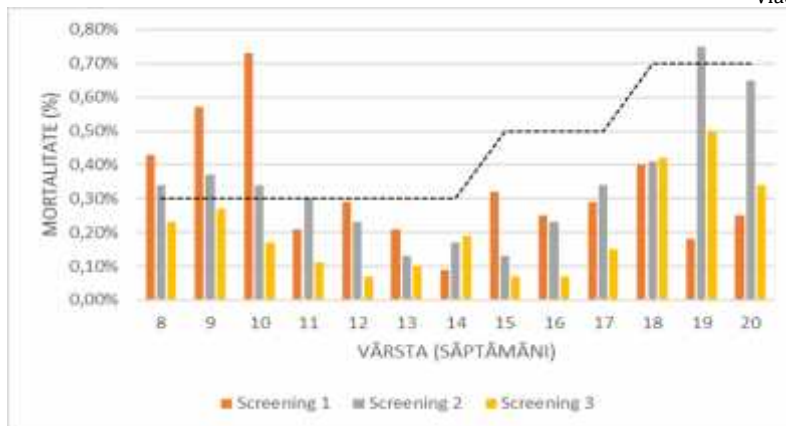


Fig. 7.60. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Ferma 5
Fig. 7.60. The evolution of mortality compared to user growth guide at Farm 5

Rezultate și discuții privind ORT obținute la Ferma 5

Primul screening

Au fost prelevate un număr de 210 probe de sânge de la cele trei vârste existente în fermă. De la fiecare vârstă a fost aleasă o hală (Hala nr. 6B, 2B și 3B), din care s-au prelevat câte 10 probe o dată la 3 săptămâni.

Tabelul 7.35/Table 7.35

Protocol imunizare ORT la Ferma 5 (screening 1)
Immunization protocol for ORT at Farm 5 (first screening)

Vârsta (zile)	Producător	Tip vaccin	Metodă aplicare
9 zile	Vaxxinova	Autogen	s.c.
49 zile	Vaxxinova	Autogen	s.c.

La această fermă se aplică vaccinarea contra ORT din anul 2012. Schema de vaccinare utilizată a fost una cu autovaccin care se administrează la vârsta de 9 zile și la 49 zile utilizând calea subcutanată (tabelul 7.35).

După cum se poate observa din cinetica imunității umorale ORT se înregistrează mai multe creșteri bruște de anticorpi (săptămânile 9, 11 și 18) care corespund cu episoade clinice de boală respiratorie în hală (fig.7.60).

Pentru prima dată la această serie au fost prelevate tamponare traheale la vârsta de 5 săptămâni, doar pentru a verifica statusul păsărilor. Rezultatul celor 10 probe examinate prin RT-PCR nu au dus la identificare virusului TRT de această dată.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv



Fig. 7.61. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 5

Fig. 7.61. The dynamics of ORT antibodies (first screening) at Farm 5

Al doilea screening

Au fost prelevate un număr de 252 probe de sânge de la hibridii de curcă. Probele au fost recoltate săptămânal de la două hale diferite (hala nr.5D și hala 2D), de vârste diferite (diferența de vârstă de o săptămână). Și de această dată s-a aplicat aceeași schemă de vaccinare ca și la seria precedentă ce a constat în două imunizări specifice la vârstele de 9, respectiv 49 de zile, utilizând calea de administrare subcutanată.

În dinamica imunității ORT umorale se înregistrează mai multe creșteri bruște de anticorpi (săptămâna 11, 14, 18) care corespund cu episoade clinice de boală respiratorie în hală. De notat este că cinetica anticorpilor în intervalul 8-9 săptămâni în care se remarcă o creștere exponențială a imunității umorale, de șase ori mai mare dar și prezența unui bagaj consistent de anticorpi maternali care, însă dispar după doar o săptămână sub pragul de pozitivitate al testului ELISA utilizat în cercetări (fig.7.61).



Fig. 7.62. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Ferma 5

Fig. 7.62. The dynamics of ORT antibodies (second screening) at Farm 5

Dat fiind faptul că screeningul a fost efectuat pe indivizi diferiți și nu într-un țarc s-a încercat în timpul apariției semnelor clinice de boală respiratorie să se facă un

țarc cu păsări afectate. De la acestea au fost prelevate probe de sânge din momentul apariției semnelor clinice și timp de patru săptămâni după dispariția acestora, în același timp s-au prelevat câte 15 probe de tamponare traheale care au fost examinate prin real time PCR.

Tabelul 7.36/Table 7.36

Rezultate ORT pentru ELISA și PCR la Ferma 5 (screening 2)
Results for ORT for ELISA and PCR at Farm 5 (second screening)

Vârsta (săptămâni)	Titru ELISA (OD 405 _{nm})	Rezultat RT-PCR
9	1712	-
10	10348	Pozitiv
11	11676	Negativ
12	8984	Pozitiv
13	5135	Pozitiv

Rezultatele furnizate la testul ELISA au indicat o creștere exponențială a nivelului de anticorpi la al doilea screening (săptămâna 10), după care cinetica umorală ORT urmează o curbă descendentă (tabelul 7.36). În același timp prin examene de biologie moleculară s-a putut identifica prezența ORT în trei din cele cinci teste efectuate, interesant fiind faptul că vârful concentrației de anticorpi specifici nu corespunde și cu identificarea prin PCR.

Al treilea screening

Au fost prelevate un număr de 252 probe de sânge. Pentru a avea o curbă a titrurilor cât mai reprezentativă în acest screening s-a făcut un țarc în Hala 3B cu 12 masculi. De la aceștia s-au prelevat probe timp de 20 de săptămâni.

După un debut destul de timid, dinamica anticorpilor ORT a înregistrat un vârf în săptămâna 8, după care nivelul s-a mai redus, urmând ca în săptămâna 19 acesta coboară sub nivelul de pozitivitate validat de producătorul testului ELISA utilizat în aceste cercetări (fig.7.63).



Fig. 7.63. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Ferma 5

Fig. 7.63. The dynamics of ORT antibodies (third screening) at Farm 5

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Din punct de vedere clinic, la apariția primelor semne de boală respiratorie au fost recoltate probe de tampoane traheale ce au fost examinate prin PCR și examen bacteriologic.

Rezultatele obținute atât la RT-PCR cât și la examenul bacteriologic nu au dus la identificarea ORT.

Sinergismul TRT, ORT și alte bacterii

De data aceasta sinergismul dintre aceste entități morbide a putut fi identificat doar în al doilea screening, atunci când la indivizii ce prezentau semne clinice respiratorii și care au fost separați într-un țarc separat s-a efectuat săptămânal teste PCR, iar rezultatul acestora a indicat prezența la același individ atât a TRT cât și a ORT.

Așadar, în contextul dat și pe baza rezultatelor obținute se poate demonstra că mortalitatea cumulată a continuat să scadă față de seriile precedente (**9,58%** / **9,05%** / **6,27%**), iar acest fenomen se poate datora și schemelor de vaccinare aplicate timp de mai multe serii la rând, atât pentru TRT (vaccin viu-atenuat) cât și pentru ORT (vaccin autogen din focar).

7.3.8. Limitele vaccinării

Mecanismele imunității locale joacă un rol foarte important în controlul și combaterea infecțiilor respiratorii la curcani, determinate de TRT și ORT și nu numai, motiv pentru care modularea răspunsului imun specific este puternic influențat de capacitatea de „luptă” ale elementelor imunității mucoaselor.

Imunitatea umorală joacă și ea un rol foarte important împreună cu imunitatea locală în lupta contra celor două entități morbide luate în studiu. De menționat este faptul că nu există la ora actuală, nici pentru TRT cât și pentru ORT, un test serologic ELISA care să indice un titru de protecție care, odată atins, să poată proteja împotriva acțiunii tulpinii sălbatică, așa cum se întâmplă, de regulă, la alte specii. Aceste kituri impun doar un prag minim de pozitivitate, completat de testele de validare ale rezultatelor furnizate de metodă.

Cu toate acestea, consultând doar rezultatele furnizate la testul ELISA se poate declara cu certitudine cauza creșterii exponențiale a anticorpilor specifici. Astfel, vaccinurile indiferent de calea de administrare utilizate, determină un răspuns umoral specific a căror valori poate ajunge până la 2-3000 maximum, în timp ce tulpina sălbatică determină creșteri exponențiale foarte mari în raport cu pragul de pozitivitate al testului utilizat. În plus, aceste creșteri bruște sunt dublate de instalarea rapidă a sindromului respirator acut, a cărei severitate este direct proporțională cu valoarea titrurilor specifice, iar pentru certitudine s-a utilizat și diagnosticul genetic ce a constatat în identificarea și cuantificarea prin real time-PCR atât a TRT cât și a ORT.

Dacă ce compară evoluția medie a titrurilor anti-TRT obținute la seriile imunizate doar de 2 ori (la ieșirea din incubație, respectiv la 21 de zile) cu valorile medii obținute de la seriile de curcani ce au primit o schemă de imunizare specifică ce a constatat în cinci administrări (la ieșirea din incubație, apoi la vârsta de 3, 7, 12 și 15

săptămâni) se constată tendințe asemănătoare la cele două grupe comparate doar că nivelul de exprimare este diferit (fig.7.64), în sensul că la curcanii imunizați doar de două ori contra TRT se constată un nivel al anticorpilor specifici mai crescut, comparativ cu hibridii de curcă ce au fost imunizați de 5 ori contra TRT, iar această diferență este mult mai evidentă la categoria de vârstă cea mai critică (8-12 săptămâni).

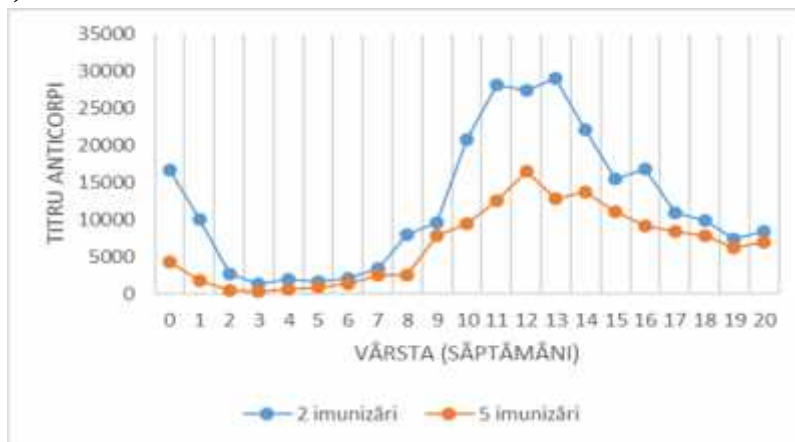


Fig. 7.64. Dinamica anticorpilor TRT (2 imunizări vs. 5 imunizări)

Fig. 7.64. The dynamics of TRT antibodies (two immunizations vs. five immunizations)

Aceste valori ale titrurilor anticorpilor specifici înregistrate la cele două grupe de hibridi de curcă indică faptul că cu cât se fac mai multe imunizări cu atât organismul imunizat devine mai puternic și mai bine pregătit în lupta cu TRT, iar nivelul de răspuns umoral este mai redus, ceea ce poate semnifica că rolul vaccinării este acela de întărire a imunității și de limitare a infecțiilor, organismul gazdă nu mai face uz de reacții umorale specifice bruște și brutale semn că sunt prezente și mecanismele de memorie ale imunității specifice.

În cazul analizei comparative dintre seriile de curcani neimunizați împotriva ORT și cele imunizate specific (două administrări de vaccin autolog) se constată o tendință asemănătoare până spre finalul seriei, însă amplitudinea răspunsului este, ca și în cazul TRT diferită. De această dată se constată un nivel mai mare al anticorpilor specifici ORT la seriile imunizate cu autovaccin (două administrări la vârsta de 9, respectiv 49 de zile) comparativ cu seriile de hibridi de curcă ce nu au fost imunizați activ pe perioada creșterii și îngrășării la care se constată o concentrație a anticorpilor specifici mai redusă (fig.7.65). Totuși, începând cu săptămâna 18 se constată un raport inversat între cele două grupe luate în studiu. Această tendință înregistrată poate fi explicată prin faptul că spre sfârșitul seriei presiunea microbiană atinge cote maxime iar curcanii neimunizați specific reacționează, în timp ce la cei imunizați se observă rolul de întărire al imunității exercitat de tulpina imunologică autologă de ORT.

Și în cazul acestei analize se poate observa că în intervalul de vârstă critică (8-12 săptămâni de viață) titrurile de anticorpi anti-ORT urcă brusc la ambele categorii de hibridi de curcă luați în analiză.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Această perioadă critică este provocată de acțiunea a mai multor factori așa cum ar fi: creșterea presiunii microbiene de acumulare, implicarea unor agenți etiologici ce manifestă acțiune sinergică cu TRT și ORT (de regulă TRT acționează primul, pentru ca mai apoi să se dezvolte ORT și celelalte bacterii implicate în complexul de boli respiratorii ale curcanilor crescuți în sistem intensiv), stresul tehnologic provocat de lotizări, extragerea femelelor, diferite acțiuni sanitar-veterinare etc..

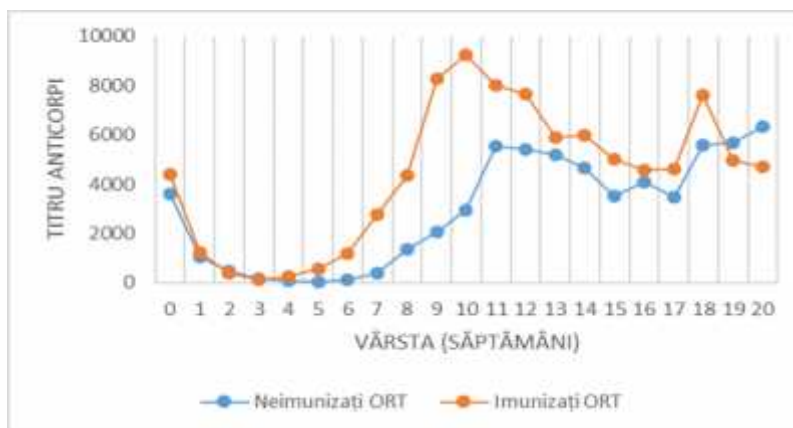


Fig. 7.65. Dinamica anticorpilor ORT (neimunizați vs. 5 imunizați)
Fig. 7.65. The dynamics of TRT antibodies (nonimmunized vs. immunized)

Referitor la imunitatea maternă se poate observa că din incubatie curcanii vin cu o zestre destul de consistentă, dar care scade foarte repede și nu interferează cu imunitatea postvaccinală și din cercetările efectuate nu reiese o importanță deosebită a acestui tip de imunitate la această specie cu privire la TRT și ORT.

Așadar, se poate ca rolul imunizării TRT și ORT este oarecum limitat, acestea contribuind la o fortuire a imunității și la limitarea acțiunii nocive a celor doi agenți infecțioși. De asemenea, același rol îl joacă și celelalte vaccinări care se practică în industria creșterii hibridului de curcă.

7.4. Concluzii parțiale

1. În funcție de intensitatea presiunii microbiene înregistrate în fiecare locație care a participat la cercetări acestea au fost împărțite în ferme cu presiune mică, controlabilă (Agro Nariman, Cărpiniș și Ferma 6), ferme cu presiune medie (Romad Otis) și ferme cu presiune accentuată (Platforma avicolă Codlea-Ferma 1, Ferma 2 și Ferma 5);

2. Pentru a putea avea un tablou cât mai complet și complex pentru a implementa cea mai eficientă metodologie profilactică s-au efectuat simultan teste serologice ELISA, examene bacteriologice, real time PCR, realizarea de preparate histologice, precum și secvențiere materialului genetic izolat;

3. Rezultatele furnizate la fermele cu presiune microbiană redusă au indicat că metodologia implementată a ajutat la obținerea de rezultate favorabile, deci măsurile întreprinse au fost suficiente;

4. La Romad Otis s-a utilizat pentru prima dată și imunizarea autogenă pentru ORT începând cu seria 2, iar rezultatele comparative au indicat fără echivoc eficacitatea măsurilor profilactice implementate;

5. În cazul fermelor cu presiune microbiană crescută, chiar dacă măsurile profilactice au fost complexe (imunizare activă TRT+ORT și tratamente antimicrobiene cu substanțe medicamentoase), se constată, totuși o creștere a indicatorului mortalitate comparativ cu restul fermelor participante la studiu;

6. Chiar dacă condițiile tehnologice au fost defavorabile la fermele cu presiune crescută se constată o îmbunătățire a indicatorilor economici și implicit și a mortalității comparativ cu seriile anterioare, ceea ce demonstrează utilitatea imunizărilor repetate TRT+ORT;

7. Vârsta critică ce trebuie luată în calcul este reprezentată de intervalul 8-12 săptămâni atunci când se înregistrează procentul cel mai crescut de mortalitate iar protocolul implementat a vizat și acoperirea acestui interval astfel încât să se poată reduce/limita pierderile;

8. Sinergismul TRT, ORT și alte bacterii este prezent, de regulă TRT joacă rolul de factor declanșator, fiind apoi urmat de ORT precum și alte bacterii cum ar fi *Bordetella bronhiseptica*, *Rimerella anapestifer*, *Pseudomonas aeroginos*, *Escherichia coli* etc.;

9. Imunizarea activă împotriva TRT și ORT nu conferă protecție împotriva bolilor ci are mai degrabă rolul de „helper”, contribuind la consolidarea imunității specifice.

CAPITOLUL 8

STUDIUL PRIVIND IMPACTUL ECONOMIC AL STRATEGIILOR APLICATE

CHAPTER 8

STUDY ON THE ECONOMIC IMPACT OF APPLIED STRATEGIES

8.1. Scopul cercetărilor

În acest capitol este argumentată și din punct de vedere economic eficiența programului imunoprofilactic implementat în creșterea hibrizilor de curcă în sistem intensiv în România.

Prin intermediul acestui studiu s-a putut evalua rentabilitatea financiară a măsurilor întreprinse nu doar strict pe costuri cât și din evaluarea consecințelor ce derivă din programul de imunizare TRT și ORT instaurat la fiecare serie și fermă de creștere și îngrășare în parte.

8.2. Impactul economic al strategiilor imunoprofilactice TRT-ORT aplicate

Sectorul avicol de creștere și îngrășare a curcanilor pentru carne a cunoscut o dezvoltare foarte mare în ultimul timp, iar această tendință a venit ca o consecință la creșterea demografică accelerată dar și ca o alternativă la puiul de carne. Piața de consum pentru carnea de curcă este dominată de Israel (13 kg/an/locuitor), SUA (8.3 kg/an/locuitor), Franța (7 kg/an/locuitor) și Germania (6.2 kg/an/locuitor), urmate îndeaproape de Italia și Polonia (5.5 kg/an/locuitor), Tunisia (5,2 kg/an/locuitor) și Marea Britanie (4.4 kg/an/locuitor). În ultimii ani a crescut consumul de carne de curcă și în alte state din America de Sud și din Europa de Est. Totuși, marea provocare pentru această industrie o constituie Asia, acolo unde există o piață de consum neexplorată, formată din 3.77 miliarde de potențiali clienți, a căror consum de carne de curcă este practic inexistent.

Pentru a putea evalua eficacitatea economică a protocolului imunoprofilactic aplicat, trebuie mai întâi stabilite toate categoriile de cheltuieli ce sunt necesare pentru creșterea și îngrășarea hibrizilor de curcă crescuți pentru carne.

În industria creșterii hibrizilor de curcă intervin mai multe cheltuieli care au fost grupate în șapte categorii de costuri și anume (Fig.8.1.): furajarea (61,31%), materialul genetic (15,54%), utilități (7,68%), resursa umană (2,73%), cheltuieli tehnologice reprezentate de transport furaje, așternut, curcani abator, motorină, dezinfectanți, achiziție așternut talaj (6%), acțiuni sanitare veterinare reprezentate de

tratamente medicamentoase antiinfecțioase cu produse antibiotice, imunizări, probiotice și vitamine (5,90%), precum și alte cheltuieli reprezentate de neutralizare cadavre, zilieri, cheltuieli neprevăzute (0,84%).

Așa după cum se poate observa din analiza cheltuielilor defalcate pe categorii, cheltuielile cu medicamentele reprezintă una dintre categoriile de cheltuieli cele mai reduse în creșterea curcanilor dar care, reprezintă un factor critic a cărei variabilitate oscilează în limite destul de largi în funcție de natura și promptitudinea acțiunilor întreprinse. Totodată, această categorie de cheltuieli reprezintă un element cheie în creșterea sau scăderea eficacității economice a unei serii de hibridi de curcă deoarece alegerea produsului potrivit urmând cel mai eficient protocol și intervenind în cel mai prielnic moment poate face diferența în această industrie.

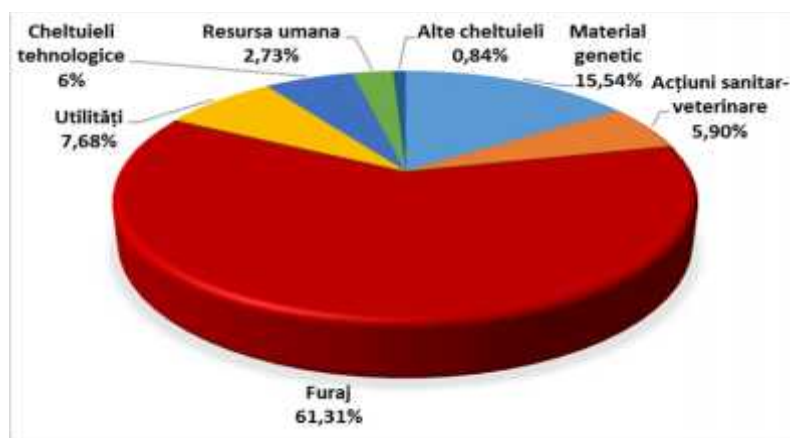


Fig.8.1. Distribuția cheltuielilor în creșterea și îngrășarea curcanilor

Fig.8.1. Distribution of costs in rearing and fattening of turkey

Cheltuielile efectuate cu acțiunile sanitar-veterinare constau în costurile reprezentate de imunizări, administrarea de probiotice, administrarea de vitamine, precum și utilizarea medicamentelor antibiotice.

În cazul fermelor amplasate pe platforma avicolă Codlea (Ferma 1, 2 și 5), unde presiunea microbiană este crescută se constată un cost cu imunizările cuprins între 39% și 41%, iar în cazul fermei Romad Otis unde presiunea microbiană este medie se constată un cost al imunizărilor de 37%. În schimb, în cazul fermelor cu presiune scăzută (Cărpiniș, Agro Nariman și Ferma 6) costurile cu imunizarea se situează între 14% și 20% din bugetul total alocat pentru acțiunile sanitar-veterinare (tabelul 8.1).

Tabelul 8.1./ Table 8.1.

Valoarea costurilor cu medicație pe fiecare fermă
The amount of medication costs on each farm

	Ferma 1	Ferma 2	Ferma 5	Romad Otis	Cărpiniș	Ferma 6	Agro Nariman
Vaccin	39%	39%	41%	37%	14%	16%	20%
Probiotic	4%	4%	4%	5%	5%	6%	7%
Vitamine	10%	11%	11%	11%	21%	15%	15%
Antibiotic	47%	46%	44%	47%	60%	63%	58%

Trebuie menționat și faptul că bugetul prevazut pentru medicație diferă de la o fermă la alta, el neavând aceeași valoare unitară, la Romad Otis el este cu 8% mai mic decât la fermele cu presiune crescută, în timp ce la fermele cu presiune scăzută acesta este mai redus cu până la 30% comparativ cu platforma Codlea.

Indiferent de presiunea microbiană existentă cea mai mare categorie de costuri al acțiunilor sanitar-veterinare este reprezentată de antibiotice ce consumă între 45,67% și 60,23% din bugetul alocat (fig.8.2), urmat de costul cu imunizările efectuate care este mult mai crescut la fermele în care există presiune medie sau crescută comparativ cu celelalte ferme și se încadrează în intervalul 14% și 41%.

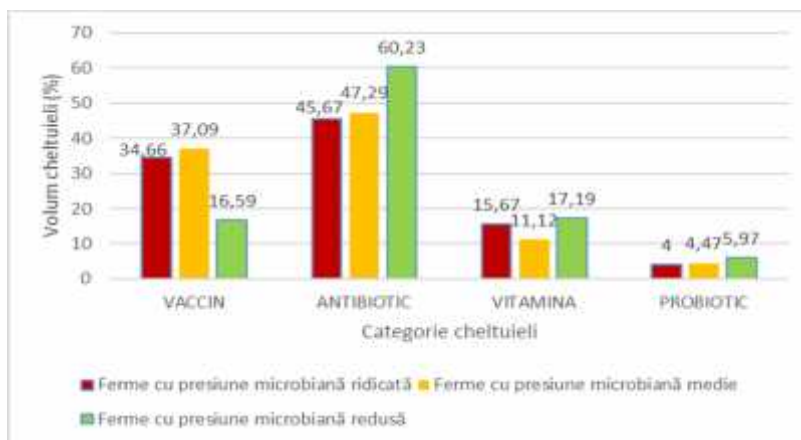


Fig.8.2. Analiză comparativă a costurilor cu medicația în funcție de presiune microbiană
Fig.8.2. Comparative analysis of medication costs considering microbial pressure

Așadar, principalele costuri cu medicația sunt reprezentate, indiferent de tipul fermei luate în studiu, de antibioticele și vaccinurile utilizate, cheltuielile cu probioticele (între 4% și 7%) și vitaminele (între 10% și 21%) fiind la un nivel redus.

Costuri înregistrate la fiecare fermă cu imunizarea TRT și ORT
Costs recorded on each farm with TRT and ORT immunization

Fermă	Costuri TRT (%)	Costuri ORT (%)	TOTAL (%)
Ferma 1	6,52	20,95	27,47
Ferma 2	7,12	22,52	29,64
Ferma 5	6,68	21,4	28,08
Romad Otis	6,97	22,38	29,35
Cărpiniș	8,1	-	8,1
Agro Nariman	10,98	-	10,98
Ferma 6	8,98	-	8,98

Costurile cu imunizarea TRT și ORT raportat la cheltuielile totale cu medicația înregistrează valori nesemnificative din punct de vedere economic privind impactul asupra bugetului seriei de hibrizi de curcă evaluate. Astfel, la fermele unde s-a utilizat o schemă de imunizare pentru rinotraheita curcilor (TRT) cu cinci imunizări utilizând preparatul biologic comercial Aviffa Rti (Merial) costurile înregistrate au oscilat între 6,52% și 10,98% (tabelul 8.2.). Totuși, atunci când s-a efectuat și imunizare cu tulpini autogene de *Ornitobacterium rinotracheale* costurile pentru două imunizări cu autovaccin au oscilat între 20,95% și 22,52% din bugetul total alocat acțiunilor sanitar-veterinare.

În ceea ce privește imunizarea pentru TRT atunci când s-a optat pentru o schemă de imunizare cu doar două administrări s-a obținut un cost redus cu 71,43% comparativ cu protocolul de imunizare cu cinci administrări. Cu toate acestea, s-a optat pentru protocolul cu mai multe imunizări deoarece, așa cum reiese și din Capitolul 7 al cercetărilor efectuate, procentul de mortalitate a fost mai redus, deci și eficacitatea economică în final.

Așadar, raportat la cheltuielile totale înregistrate pe o serie de creștere, costurile cu cinci imunizări pentru TRT împreună cu două imunizări pentru ORT cu vaccin autogen, reprezintă 1,68% din totalul costurilor bugetate pe o serie de creștere și îngreșare a curcanilor.

Pentru a putea face o evaluare cât mai corectă privind impactul economic al măsurilor imunoprofilactice implementate nu este suficientă doar o serie de calcule matematice stricte, care oricum sunt în favoarea acestor măsuri, ci trebuie exploatată imaginea de ansamblu și influența fiecărui factor implicat ca urmare a măsurilor aplicate. Trebuie avuți în vedere doi parametri primordiali și anume indicatorul epidemiologic mortalitate și cantitatea de carne exploatată de abator. În afară de acești doi parametri în evaluarea rentabilității economice mai intervin și alți factori variabili reprezentați de: factori favorizanți gen stresul de grup, genetica în strânsă legătură cu creșterea forțată, vârsta la care apar mortalitățile, sacrificări de necesitate, confiscări în abator, deprecierea carcasei atât estetic-calitativ cât și prin obligativitatea de a valorifica carnea la categorii inferioare la vânzare, consumul specific, pierderile sau

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv
deprecierilor de masculi a căror valorificare este superioară, cheltuieli de neutralizare etc.

În continuare, pentru a putea evidenția eficacitatea măsurilor imunoprofilactice implementate s-a evaluat direct indicatorul mortalitate (indirect prin pierderile prin mortalitate au putut fi evaluate și pierderile economice exprimate în cantitatea de carne livrată spre abator). Pentru aceasta s-au comparat trei serii distincte de curcani care au fost crescute în aceeași fermă beneficiind de aceleași condiții tehnologice și de presiune microbiană. Astfel, s-a comparat o serie de curcani care nu a fost imunizată contra ORT ci doar TRT (două administrări) cu o serie ce a fost imunizată contra TRT (doar două administrări) și ORT (două administrări) și cu altă serie ce a fost imunizată împotriva TRT (cinci administrări) și ORT (două administrări).

Rezultatele obținute au indicat faptul că procentul cel mai mare de mortalitate în perioada studiată (intervalul de vârstă de 8-19 săptămâni) a fost înregistrat la seria nevaccinată ORT (28,63%) în timp ce la seria imunizată de două ori contra TRT mortalitatea a scăzut la 7,16%, iar la seria care a primit cinci administrări de vaccin comercial Aviffa Rti (Merial), mortalitatea a scăzut până la 3,87% (fig.8.3) în timp ce ghidul de creștere și îngrășare a indicat o mortalitate de 5%.

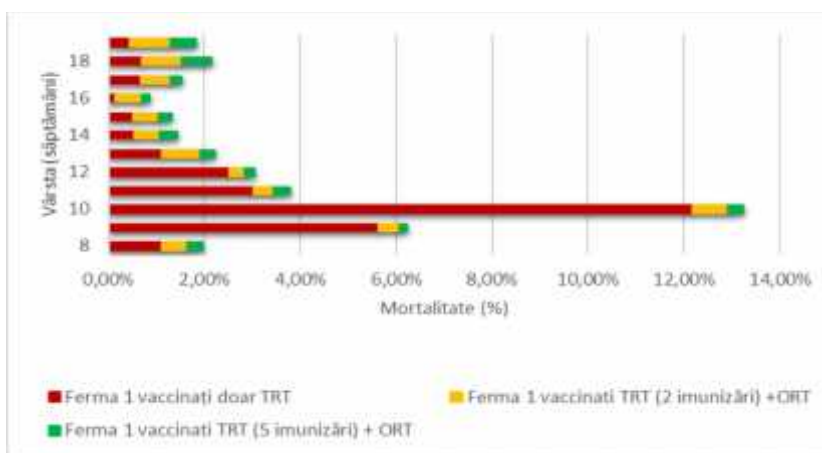


Fig.8.3. Analiză comparativă a mortalității înregistrate la curcani neimunizați și imunizați contra TRT și ORT

Fig.8.3. Comparative mortality analysis of non-immunized and immunized turkeys against TRT and ORT

Așa cum se observă în studiul comparativ din fig.8.3 procentul de mortalitate înregistrat la seria nevaccinată pentru ORT depășește de aproape șase ori valoare descrisă de ghid, ceea ce implică pierderi economice considerabile atât prin mortalitatea înregistrată cât și prin nerealizarea sporului, creșterea consumului specific sau numărul mare de reforme înregistrat la finalul seriei. De exemplu, la un calcul efectuat doar pe un singur individ la vârsta de 10 săptămâni când are o greutate de 7,7 kg incluzând doar cheltuielile majore reprezentate de furajare, material genetic de o zi

și neutralizarea cadavrului se obține un cost echivalent cu o cantitate 7 kg carne carcasă.

Astfel, intervalul de vârstă critică la care se înregistrează mortalitate crescută are o influență considerabilă în evaluarea economică, deoarece mortalitate crescută la vârste mici reprezintă pierderi reduse (doar prețul materialului genetic de o zi și cantitatea de furaj consumată care este infimă) comparativ cu vârsta de 10 săptămâni sau mai mult când pierderile sunt foarte mari.

Un alt factor variabil care trebuie luat în considerare este reprezentat de factorul favorizant stres, el devenind critic pentru curcani conform tehnologiei de creștere la vârstele de 9-10 săptămâni când se sacrifică jumătate dintre femele și la 13 săptămâni când se abatorizează cealaltă jumătate ei rămânând singuri în hală până la valorificare prin abatorizare începând cu vârsta de 19 săptămâni.

Materialul genetic utilizat reprezintă o altă variabilă ce favorizează apariția problemelor deoarece genetica pune presiune pe individ să crească într-un ritm accelerat pe care organismul acestora îl poate susține, rezultatele obținute relevă faptul că mortalitățile catalogate ca fiind accidente genetice (ruptură de aortă, sindromul morții subite, diferite afecțiuni ale membrilor) nu au reprezentat niciodată mai mult de 1% din mortalitățile înregistrate într-o serie. Dacă acest hibrid are condiții de creștere adecvate atunci el își îndeplinește creșterea conform profilului genetic utilizat. Acest lucru s-a observat la fermele cu presiune microbiană redusă unde parametrii tehnologici ai curcanilor la sacrificare au fost îndepliniți, însă la fermele cu presiune microbiană ridicată unde au presat TRT, ORT și flora sinergică acestora și nu s-a efectuat nici imunizări specifice suficiente, s-a observat o scădere a indicatorilor economici la finalul seriei. Presiune genetică se face simțită în special la curcani, care trebuie să acumuleze un spor de greutate foarte mare într-un timp redus iar perioada critică debutează de la 8-9 săptămâni până la sacrificare.

Pe lângă pierderile înregistrate ca urmare a accidentelor genetice se mai înregistrează și mortalități datorate canibalismului sau accidentelor postvaccinale, însă acestea nu depășesc 0,5%.

O altă variabilă destul de importantă în balanța economică este reprezentată de pierderile de abator prin reforme și confiscate. Dacă confiscatele se mențin la un nivel relativ constant de 1,5-2%, reformele pot varia foarte mult în funcție de fermă și de strategiile imunoprofilactice aplicate.

De exemplu, la ferma Agro Nariman unde presiunea microbiană este la un nivel redus și nu s-a impus niciodată utilizarea de vaccin autogen pentru ORT dar se imunizează de cinci ori pentru TRT s-a obținut un procent de reforme după abataj de 0,85% la vârsta de 19 săptămâni iar cantitatea de carne valorificată a atins 81% din ghidul de creștere. Pe de altă parte la Ferma 2 unde există presiune crescută și nu s-a recurs la utilizarea autovaccinului ORT ci doar TRT s-a înregistrat un procent de reforme de 8,97%. Prin comparație, la o altă serie de curcani crescuți în aceeași fermă dar care au primit și două administrări de preparat imunogen autogen ORT reformele au reprezentat doar 1,56%, iar greutate de livrare a reprezentat 79% comparativ cu

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

ghidul de creștere, iar restul curcanilor au avut greutatea de livrare conformă cu ghidul.

Sacrificările de necesitate reprezintă o altă cheltuială ce are strânsă legătură cu protocolul imunoprofilactic aplicat și care se impun atunci când apar în halele de creștere manifestări respiratorii supraacute ce nu pot fi reduse prin medicație și se direcționează animalele spre valorificare prin abatorizare decât să crească procentul de mortalitate.

Revenind la indicatorul epidemiologic mortalitate se poate observa eficacitatea măsurilor imunoprofilactice implementate prin studiul comparativ al acestui indicator înregistrat în intervalul critic de vârstă (7-13 săptămâni) la seriile imunizate doar pentru TRT cu seriile imunizate atât pentru TRT cât și pentru ORT (fig.8.4).

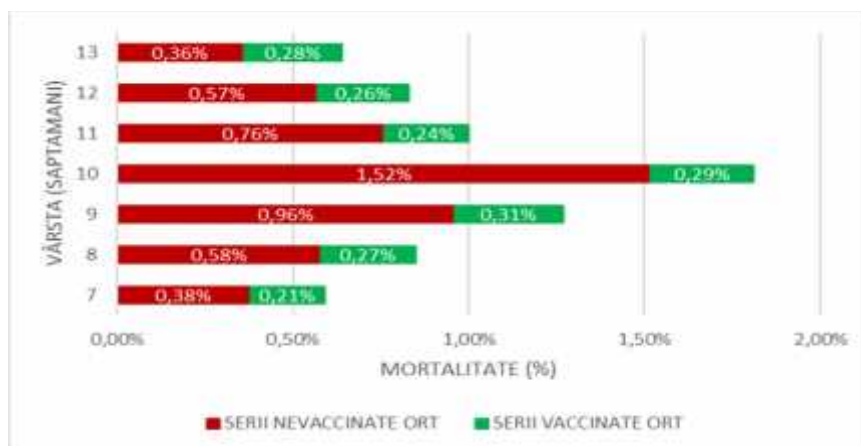


Fig.8.4. Prevalența mortalității în funcție de statusul imun privind ORT

Fig.8.4. Prevalence of mortality depending on the ORT immune status

Indicatorul luat și ca reper de eficacitate economică a înregistrat valori foarte mari la seriile imunizate doar pentru TRT, ceea ce a dus indirect la pierderi economice. Astfel, valoarea medie cea mai crescută a mortalității luând în calcul toate seriile de păsări (curci și curcani) crescute în perioada 2010-2016 care au fost imunizate doar pentru TRT, a fost înregistrată în săptămâna 10 de viață când a avut o valoare de 1.52%. Procentul mediu de mortalitate înregistrat la vârsta de 10 săptămâni este de peste cinci ori mai mare comparativ cu valoarea medie al aceluiași indicator înregistrată la seriile imunizate TRT și ORT (0.29%) și de peste șapte ori mai mare decât valoarea recomandată de ghidul de creștere și îngrășare (0.20%).

Pentru a evidenția și mai mult eficacitatea vaccinărilor atât pentru TRT cât și pentru ORT se poate face un calcul simplu pentru a evalua pierderile economice realizate prin mortalitate și implicit prin nerealizarea cantității de carne la abator dacă se ia în considerare că la vârsta de 7 săptămâni curcanii au o greutate medie de 4,12 kg

cu un consum cumulat de 5.99 kg furaj, iar cei de 13 săptămâni au o greutate de 11,76 kg cu un consum cumulat de 22.09 kg furaj.

Însă, pierderile nu se rezumă doar la mortalități și mai trebuie luate în calcul și pierderile realizate în urma trecerii prin boală, reprezentate de scăderile în greutate și nerealizarea sporului care, de cele mai multe ori, nu este recuperat până la sfârșitul seriei, precum și pierderile de abator prin reforme și confiscări.

Un alt aspect de luat în calcul pentru evidențierea eficacității economice a programului imunoprolactiv instaurat este reprezentat și de procentul de variație al mortalității în intervalul de vârstă 7-13 săptămâni. Astfel, variația medie a mortalității la seriile imunizate doar pentru TRT a fost de 76.4% (0.36%-1.52%), în timp ce variația aceluiași indicator la seriile imunizate TRT și ORT a fost de doar 32.3% (0.21%-0.31%).

8.3. Concluzii parțiale

1. În creșterea hibridilor de curcă pentru carne categoria de cheltuieli cu medicația reprezintă doar 5.90% din totalul cheltuielilor înregistrate cu o serie;

2. La fermele în care se înregistrează o presiune microbiană medie și crescută, costurile cu imunizările TRT și ORT înregistrează valori cuprinse între 19,64% și 27.47%, în timp ce la fermele cu presiune microbiană redusă costurile pentru TRTs-au încadrat între 8.1% și 10.98% din bugetul alocat acestei categorii de cheltuieli;

3. La Ferma 1 eficacitatea măsurilor imunoprolactice s-au evidențiat prin faptul că seria imunizată contra ORT (două administrări) și TRT (cinci administrări) a înregistrat cea mai redusă mortalitate comparativ cu seriile imunizate doar pentru TRT (două, respectiv cinci administrări) la intervalul de vârstă 8-18 săptămâni;

4. Procentul de reforme a fost influențat considerabil în cazul fermelor cu presiune microbiană crescută de statusul imun privind TRT și ORT, astfel că la seria crescută în Ferma 2 unde s-a imunizat doar pentru TRT s-a înregistrat un procent de reforme de 8.9%, în timp ce în aceleași condiții tehnologice, dar la o altă serie care a fost imunizată TRT și ORT procentul înregistrat de reforme a fost de doar 1,56%;

5. Valoare medie a indicatorului epidemiologic mortalitate a înregistrat valori mult mai mari la seriile neimunizate ORT comparativ cu seriile ce au fost imunizate pentru aceasta boală, în intervalul de vârstă 7-13 săptămâni.

6. Eficacitatea măsurilor imunoprolactice implementate în ceea ce privește TRT și ORT rezidă atât din cheltuielile directe cu vaccinurile care nu reprezintă decât 1.68% din costurile totale ale unei serii, cât și din impactul pozitiv al acestor măsuri evaluate prin scăderea mortalității la vârste critice, scăderea numărului de reforme la abator, scăderea costurilor de neutralizare și implicit prin creșterea cantității de carne livrate spre valorificare dar și a calității acesteia.

CAPITOLUL 9

CONCLUZII ȘI RECOMANDĂRI

În urma cercetărilor efectuate privind infecțiile provocate de virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) și de *Ornitobacterium rinotracheale* (ORT) la hibridii de curcă s-au formulat următoarele concluzii finale:

1. Cercetările efectuate în perioada 2010-2016 ce a cuprins 82 de serii de creștere și îngrășare curci/curcani (8659750 păsări) care au fost repartizate în șapte locații (Agro Nariman, Cărpiniș, Ferma 6, Romad Otis, Ferma 1, Ferma 2 și Ferma 5), utilizând materialul genetic reprezentat din șapte hibridi (BUT 6, BUT 7, Converter, Nicholas 300, Hybrid Grade Maker, Aviagen Premium și Hybrid XL) furnizat din șapte țări (Germania, Franța, Slovacia, Polonia, Ungaria, Austria și Marea Britanie) au prevalat o valoare medie a indicatorului epidemiologic mortalitate de 8,66%;

2. Prevalența mortalității a înregistrat valori maxime în anul 2012 (14,34%), valorile minime fiind de 5,25% înregistrate în anul 2011, iar în cazul seriilor în care s-a utilizat ca și material genetic un singur hibrid, mortalitatea înregistrată a fost de 6,18%, în timp ce la seriile de colectură poli-hibrid același indicator epidemiologic a avut o valoare de 9,34%;

3. Din punct de vedere clinic și morfopatologic infecțiile respiratorii produse de virusul rinotraheitei infecțioase a curcilor (TRT) și *Ornitobacterium rinotracheale* nu se poate stabili un diagnostic de certitudine, pentru realizarea acestui deziderat fiind necesare investigații paraclinice suplimentare;

4. Chiar dacă tabloul clinic cât și cel anatomopatologic nu identifică elemente patognomonice pentru TRT și ORT, rezultatele furnizate de acestea, coroborate cu istoricul fermei, severitatea manifestărilor clinice și evoluția letalității pot orienta diagnosticul la acest nivel;

5. Având în vedere starea fermelor de creștere (noi sau vechi și adaptate pentru creșterea curcanilor și/sau modernizate) și în urma unei analize primordiale ce a constatat în evaluarea presiunii microbiene extrinseci, facilitățile au fost grupate în trei categorii și anume: ferme cu presiune joasă (Agro Nariman, Cărpiniș și Ferma 6), cu presiune medie (Romad Otis) și ferme cu presiune crescută (Ferma 1, Ferma 2 și Ferma 5), iar după această clasificare a fost implementată și metodologia de profilaxie specifică cea mai adecvată pentru fiecare stabiliment în parte;

6. Imunizarea activă contra TRT s-a dovedit a fi mult mai eficientă la seriile la care protocolul de imunizare a cuprins în schema de vaccinare cel puțin cinci administrări, comparativ cu seriile la care s-a recurs la doar două sau trei imunizări specifice, indiferent de intensitatea presiunii microbiene exogene;

7. Instaurarea unui protocol de imunizare pentru ORT, utilizând un preparat autolog din focar (două administrări) s-a dovedit a fi o decizie foarte eficientă ce a dus la scăderea complicațiilor și a mortalității provocate de această boală, precum și la îmbunătățirea indicatorilor economice ai seriei;

8. În urma efectuării testului real time PCR, rezultatele furnizate de acesta au identificat prezența virusului TRT subtipurile A și B în toate fermele luate în studiu;

9. În urma efectuării testelor MALDI TOF și real time PCR, rezultatele furnizate de acestea au indicat prezența ORT, serotipurile A, B, C, E și I/J în fermele luate în studiu;

10. Măsurile implementate la fermele cu presiune microbiană scăzută reprezentate doar de imunizare TRT (două sau cinci administrări) s-au dovedit a fi foarte eficiente;

11. Utilizarea pentru prima dată la ferma Romad Otis a imunizării specifice contra ORT utilizând vaccin autolog, s-a dovedit a fi cea mai înțeleaptă decizie care, dublată de imunizarea TRT au demonstrat fără echivoc o îmbunătățire în urma planului imunoprolifactic implementat;

12. În cazul fermelor cu presiune microbiană exogenă crescută, implementarea programului de profilaxie specifică cu privire la imunizarea TRT (două și cinci administrări) și ORT (două administrări), a indicat o îmbunătățire a indicatorilor sanitar-veterinari, respectiv a celor economico-financiar;

13. Intervalul de vârstă 8-12 săptămâni poate fi considerat cel mai critic în creșterea și îngrășarea hibridilor de curcă, luând în considerare indicatorul epidemiologic mortalitate precum și indicatorii derivați din acesta;

14. În urma cercetărilor efectuate se poate observa instalarea unui sinergism ce interesează TRT, ORT precum și alte bacterii reprezentate de: *Bordetella bronhiseptica*, *Rimerella anapestifer*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* etc.;

15. Cu cât protocolul de imunizare pentru TRT cuprinde o schemă de imunizare mai complexă cu mai multe administrări, cu atât aceste serii de hibridi de curcă vor avea indicatori tehnico-sanitari și economici mai favorabili;

16. În cazul infecțiilor cu *Ornitobacterium rinotracheale* se poate concluziona că imunizarea activă joacă un rol determinant în stabilirea eficacității măsurilor întreprinse din punct de vedere sanitar și economic;

17. Programul de imunizare specifică în ceea ce privește TRT și ORT, reprezintă doar 1,68% din costurile totale ale unei serii și, în plus trebuie luat în considerare și impactul pozitiv al măsurilor întreprinse prin scăderea mortalității și a costurilor de consum și neutralizare, a reformelor și implicit prin creșterea indicatorilor economici privind valorificarea carcaselor;

18. Așadar, dacă se respectă tehnologia de creștere și se aplică cel mai potrivit protocol de imunizare specifică în ceea ce privește infecțiile provocate de TRT, ORT și alți agenți infecțioși implicați în creșterea curcanilor se pot obține rezultate foarte bune în vederea rentabilizării maxime a acestei ramuri a industriei avicole.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

În urma experienței acumulate în creșterea și îngrășarea curcanilor pentru carne, precedată de o experiență semnificativă în sectorul de creștere a broilerului de carne, coroborate cu cercetările de față se impune enunțarea unor recomandări ce au un fundament științific solid și care pot ajuta foarte mult această industrie prin expunerea *know how*-ului care poate duce la o eficientizare maximă în acest domeniu.

Recomandări

1. Asigurarea condițiilor optime din punct de vedere tehnologic și sanitar-veterinar corespunzătoare acestei specii;

2. Cu cât dimensiunea fermei crește (Ferma nr. 1,2,5) cu atât presiunea infecțioasă crește în cazul TRT și ORT și invers cu cât ferma este mai mică (Ferma Agro Nariman, Cărpiniș) și presiunea este mai mică;

3. Dacă materialul genetic este reprezentat de un singur hibrid care provine dintr-o singură sursă, atunci acea serie va avea indicatori superiori comparativ cu o serie provenită din mai multe surse (material genetic heterogen și surse multiple);

4. Respectarea vidului sanitar va duce la scăderea presiunii microbiene interne (de acumulare), indicatorii sanitar-veterinari și economici înregistrați de o astfel de serie fiind de calitate superioară;

5. Impunerea unui protocol sanitar-veterinar și tehnologic foarte eficient mai ales în primele 42 zile de viață va duce la scăderea mortalității la această categorie de vârstă a acestui indicator epidemiologic foarte important în această industrie;

6. Implementarea unui protocol ce presupune imunizări specifice pentru TRT și ORT, îndeosebi în fermele în care este prezentă o presiune microbiană exogenă exacerbată;

7. Limitarea circulației și evitarea astfel a contaminării încrucișate între ferme, mai ales în cazul fermelor catalogate ca fiind cu presiune redusă, în care investițiile cu imunizările specifice TRT și ORT sunt minime și pe deplin justificate economic și sanitar;

8. Efectuarea unei analize de risc care să țină cont de specificul fermei, pornind de la principiul primordial risc-beneficiu, astfel încât investițiile în protocolul imunoprofilactic să fie direct proporțional cu rezultatele potențiale obținute;

9. O atenție deosebită trebuie alocată intervalului de vârstă 8-12 săptămâni (perioadă critică), pentru a putea reduce presiunea exercitată pe indivizi datorată intervențiilor sanitar-veterinare, stresului de creștere, diferite lotizări etc.;

10. Imunizarea contra TRT cu subtipuri vaccinale corespunzătoare tulpinilor sălbatice circulante.

11. Imunizarea specifică pentru TRT cu cel puțin cinci administrări pe cale aerogenă pe durata creșterii unei serii;

12. Imunizarea specifică pentru ORT cu cel puțin două administrări pe durata creșterii unei serii cu serotipurile circulante izolate de la o serie la alta pentru fiecare fermă în parte.

13. Imunizarea simultană TRT + ORT, eventual cu alte imunizări specifice pentru a reduce stresul de manoperă, ținând cont de faptul că această specie este foarte receptivă la factorii stresanți;

14. Eficacitatea măsurilor sanitar-veterinare privind profilaxia specifică TRT, ORT și alte entități morbide trebuie evaluată ca un ansamblu unitar și nu pe fiecare afecțiune în parte;

15. Rezultatele obținute în urma cercetărilor efectuate recomandă, în cazul fermelor cu presiune medie și/sau crescută, imunizarea activă pentru TRT și ORT utilizând scheme de vaccinare ce constau în administrări multiple;

16. Implementarea unui protocol imunoprofilactic privind infecțiile cu TRT și ORT cât mai adecvat va duce la scăderea mortalității, a confiscatelor, a valorificării la o clasă inferioară de calitate, a reformelor, precum și la o creștere a cantității de carne spre abator și implicit la o creștere a eficacității economice prin valorificarea superioară a produsului finit furnizat de această ramură a industriei avicole.

CHAPTER 9

CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

Following research on infections caused by infectious turkey rhinotracheitis virus (TRT) and *Ornitobacterium rhinotracheal* (ORT) in turkey hybrids, the following conclusions were drawn:

1. Research conducted over the period 2010-2016, comprising 82 series of growing and fattening hens/turkeys (8659750 birds) which were distributed in seven locations (Agro Nariman, Cărpiniș, Ferma 6, Romad Otis, Farm 1, Farm 2 And Farm 5), using the genetic material of seven hybrids (BUT 6, BUT 7, Converter, Nicholas 300, Hybrid Grade Maker, Aviagen Premium and Hybrid XL) delivered from seven countries (Germany, France, Slovakia, Poland, Hungary, Austria And Great Britain) prevailed an average value of the epidemiological mortality indicator of 8.66%;

2. The prevalence of mortality registered maximum values in 2012 (14.34%), the minimum values being of 5.25% recorded in 2011, and in the case of series where only one hybrid was used as a genetic material, the recorded mortality was 6.18%, while in the poly-hybrid collection series the same epidemiological indicator had a value of 9.34%;

3. From the clinical and morphopathological point of view, respiratory infections caused by infectious turkeys rhinotracheitis virus (TRT) and *Ornitobacterium rhinotracheale* can not establish a diagnosis of certude, and for achieve this goal further paraclinical investigations are necessary;

4. Although the clinical and the anatomopathological data does not identify pathognomonic elements for TRT and ORT, the results provided by them, corroborated with farm history, the severity of clinical manifestations and lethal evolution may guide the diagnostic at this level;

5. Considering the state of the growing farms (new or old and adapted for turkey-breeding and/or upgraded) and a fundamental analysis of the evaluation of extrinsic microbial pressure, the facilities were grouped into three categories: farms with low pressure (Agro Nariman, Carpinis and Farm 6) with medium pressure (Romad Otis) and farms with high pressure (Farm 1, Farm 2 and Farm 5), and after this classification was implemented the most suitable specific prophylaxis methodology for each establishment;

6. Active immunization against TRT has been shown to be more effective in series in which the immunization protocol included at least five administrations in the vaccination schedule compared with the series where only two or three specific immunizations were used, regardless of the intensity of the microbial pressure exogenous;

7. Establishment of an immunization protocol for ORT using an autologous preparation from the outbreak (two administrations) proved to be a very effective decision that reduced the complications and mortality caused by this disease as well as to improve the economic indicators of the series;

8. Following the real time PCR test, the results provided by it identified the presence of the TRT virus subtypes A and B in all farms under study;

9. Following the MALDI TOF and real time PCR tests, the results provided by them indicated the presence of ORT, serotypes A, B, C, E and I/J in the farms under study;

10. Measures implemented in farms with low microbial pressure, represented only by TRT immunization (two or five administrations) proved to be very effective;

11. The first use specific immunization against ORT using autologous vaccine in Romad Otis, proved to be the most wise decision that, coupled with TRT immunization, unequivocally demonstrated an improvement of the implemented immunoprofilactic plan;

12. In the case of farms with high exogenous microbial pressure, the implementation of the specific prophylaxis program regarding immunization of TRT (two and five administrations) and ORT (two administrations) indicated an improvement of the sanitary-veterinary indicators, respectively economic and financial ones;

13. The age range of 8-12 weeks may be considered the most critical in the growth and fattening of turkey hybrids, taking into account the epidemiological mortality index and the indicators derived from it;

14. Following the researches carried out, we can see the occurrence of a synergism involving TRT, ORT and other bacteria represented by: *Bordetella bronchiseptica*, *Rimerella anapestifer*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* etc .;

15. If the immunization protocol for TRT involves a more complex immunization scheme with multiple administrations, the more that turkeys hybrids series will have more favorable technical and sanitary indicators;

16. In the case of *Ornitobacterium rhinotracheale* infections, it can be concluded that active immunization plays a decisive role in determining the effectiveness of sanitary and economic measures;

17. The specific immunization program for TRT and ORT represents only 1.68% of the total costs of a series and, moreover, the positive impact of measures taken by decreasing mortality, feeding costs and neutralization reforms costs, and implicitly by increasing the economic indicators regarding the capitalization of the carcasses;

18. Therefore, if the breeding technology is respected and the most appropriate immunization protocol is in place for infections caused by TRT, ORT and other infectious agents involved in the growth of turkeys, very good results can be obtained in order to maximize the profitability of this branches of the poultry industry.

Following the experience gained in the growth and fattening of turkey meat, preceded by a significant experience in the meat broiler breeding sector, corroborated with the present research, it is necessary to make recommendations that have a solid scientific basis and can greatly help this industry by exposing know-how that can lead to maximum efficiency in this area.

Recommendations

1. Providing optimal technological and veterinary conditions appropriate to this species;

2. The higher the size of the farm (Farm 1, 2 and 5), the more infectious pressure increases in the case of TRT and ORT, and vice versa, the smaller the farm (Agro Nariman, Carpiși, Farm 6) and the lower the pressure;

3. If the genetic material is represented by a single hybrid that comes from a single source, then that series will have higher indices compared to a series derived from multiple sources (heterogeneous genetic material and multiple sources);

4. Respecting the sanitary vacuum will reduce the internal microbial pressure (accumulation), the veterinary and economic indicators registered by such a series will have a superior quality;

5. The imposition of a very efficient veterinary and technological protocol, especially during the first 42 days of life, will lead to a decrease the mortality rate in this age category of this very important epidemiological indicator in this industry;

6. Implementation of a protocol that involves specific immunizations for TRT and ORT, especially in farms where an exacerbated exogenous microbial pressure is present;

7. Movement restriction and thus avoid cross-contamination between farms, especially in the case of farms classified as low-pressure, where the investments with the specific immunizations TRT and ORT are minimal and fully justified in economic and health terms;

8. Perform a risk analysis that takes into account the farm's specificity, starting from the principle of risk-benefit, so that investments in the immunoprophylaxis protocol should be directly proportional to the potential results obtained;

9. Special attention should be given to the age range of 8-12 weeks (critical period) in order to reduce the pressure on individuals caused by the veterinary interventions, growth stress, various separation, etc. ;

10. Immunization against TRT with vaccine subtypes corresponding to circulating wild strains;

11. Specific immunization for TRT with at least five aerogenic administrations during the growth of a series;

12. Specific immunization for ORT with at least two administrations during the growth of a series using the circulating serotypes isolated from one series to another for each farm;

13. Simultaneous TRT + ORT immunization, possibly with other specific immunizations to reduce manual labor stress, taking into account that this species is highly responsive to stress factors;

14. The effectiveness of sanitary-veterinary measures for the specific prophylaxis of TRT, ORT and other morbid entities should be assessed as a unitary set and not for each particular condition;

15. The results obtained from the investigations carried out recommend active immunization for TRT and ORT in medium and/or high-pressure farms using multiple vaccination regimens;

16. Implementation of an immunoprophylactic protocol for TRT and ORT infections as appropriate will lead to a decrease in mortality, seized product, inferior quality, reforms, as well as an increase in the quantity of meat to the slaughterhouse and implicitly an increase in economic efficiency through the superior valorisation of the finished product provided by this branch of the poultry industry.

Bibliografie

1. Akers M.R. and Denbow M.D., 2013 - *Anatomy and Physiology of Domestic Animals*. 2nd Edition. Editura John Wiley & Sons, Inc.
2. Alexander D.J. 1993 - *Pneumoviruses (turkey rhinotracheitis and swollen head syndrome of chickens*. In: *Virus Infections of Birds*. J.B. McFerran and MS McNulty, eds. Editura Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam.
3. Alkhalaf A.N., Ward L.A., Dearth R.N. and Saif Y.M., 2002 - *Pathogenicity, transmissibility and tissue distribution of avian pneumovirus in turkey poults*. *Avian Diseases*, vol. 46, p. 650–659.
4. AMCRA, 2013 - *Belgian Institute of Antimicrobial Consumption and Resistance in Animals. Formularium voor verantwoord gebruik van antibacteriële middelen*. Varken, Rundvee en Pluimvee. 1 st Edition.
5. Anonymous, 1995 - *Ornithobacterium rhinotracheale in ostrich*. Khangela Quarterly Report on Animal Disease Surveillance, South Africa, vol. 11.
6. Antohe R., 2011 - *Cercetări privind infecțiile cu pneumovirus la păsări*. Teză de doctorat, USAMV Iași.
7. Arstila T.P., Vainio O. and Lasilla O., 1994 - *Centrale role of CD4+ T cells in avian immune responses*. *Poultry Science*, vol. 73, p.1019-1026.
8. Aung Y.H., Liman M., Neuman U. and Rautenschlein S., 2008 - *Reproducibility of swollen sinuses in broilers by experimental infection with avian metapneumovirus subtypes A and B of turkey origin and their comparative pathogenesis*. *Avian Pathology*, vol. 37, p. 65–74.
9. Avakian A.P. and Ley D.H., 1993 - *Protective immune response to Mycoplasma gallisepticum demonstrated in respiratory-tract washings from M. gallisepticum-infected chickens*. *Avian Diseases*, vol. 37, p. 697-705.
10. Baba T., Kawata T., Masumoto K. and Kajikawa, T., 1990 - *Role of the harderian gland in immunoglobulin A production in chicken lacrimal fluid*. *Research in Veterinary Sciences*, vol. 49, p. 20-24.
11. Back A., Rajashekara G., Jeremiah R., Halvorson D. and Nagaraja K., 1998 - *Tissue distribution of Ornithobacterium rhinotracheale in experimentally infected turkeys*. *Veterinary Record*, vol. 143, p. 52-53.
12. Barnas G.M., Hempleman S.C., Harinath P., et al., 1991 - *Respiratory system mechanical behavior in the chicken*. *Respiration Physiology*, vol. 84, nr.2, p.145–157.
13. Bayon-Auboyer M.H., Arnault C., Toquin D. et al., 2000 - *Nucleotide sequences of the F, L and G protein genes of two non-A/non-B avian pneumoviruses (APV) reveal a novel APV subgroup*. *Journal of General Virology*, vol. 81, p. 2723–2733.
14. Bennett R.S., Nezworski J., Velayudhan B.T., Nagaraja K.V., Zeman D.H., Dyer N., Graham T., Lauer D.C., Njenga M.K. and Halvorson D.A., 2004 - *Evidence of avian pneumovirus spread beyond Minnesota among wild and domestic birds in Central North America*. *Avian Diseases*, vol 48, p. 902–908.
15. Bienenstock J. and Befus D., 1984 - *Gut- and bronchus-associated lymphoid tissue*. *American Journal of Anatomy*, vol. 170, p. 437-445.
16. Bienenstock J., Johnston N. and Perey D.Y., 1973 - *Bronchial lymphoid tissue. I. Morphologic characteristics*. *Laboratory Investigations*, vol. 28, p. 686-692.
17. Bock R., Freidlin P., Manoim M., Inbar A., Frommer A., Vandamme P. and Wilding P., 1997 - *Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) associated with a new turkey respiratory tract infectious agent in Israel*. *Proceedings of the 11th International Congress of the World Veterinary Poultry Association*, Budapest, vol. 120.
18. Bowden D.H., 1987 - *Macrophages, dust, and pulmonary diseases*. *Experimental Lung Research*, vol. 12, p. 89-107.

19. Brain J.D., 1985 - *Macrophages in the respiratory tract*. In: *Handbook of Physiology*, Vol. 1. *Circulation and Nonrespiratory Functions*. Fishman A.P. and Fisher A.B., eds.), vol. 1, p. 447-471, American Physiological Society, Bethesda, Maryland.
20. Brandtzaeg P., Jahnsen F.L., Farstad I.N. and Haraldsen G., 1997 - *Mucosal immunology of the upper airways: an overview*. Annals of New York Academy of Sciences, vol. 830, p. 1-18.
21. Broor S. and Bharaj P., 2007 - *Avian and Human Metapneumovirus*. Annals of New York Academy of Sciences, vol. 1102, p. 66-85.
22. Brown R.E., Kovacs C.E., Butler J.P., Wang N., Lehr J., Banzett R.B., 1995 - *The avian lung: is there an aerodynamic expiratory valve?* Journal of Experimental Biology, vol. 198, p. 2349-2357.
23. Buys S., 1996 - *Ornithobacterium rhinotracheale an emerging disease in South Africa*. Aerosols Newsletter of the World Veterinary Poultry Association, p. 8-10.
24. Buys S.B. and du Preez J.H., 1980 - *A preliminary report on the isolation of a virus causing sinusitis in turkeys in South Africa and attempts to attenuate the virus*. Turkeys, vol. 36, p. 46.
25. Buys S.B., Du Preez J.H., Els H.J., 1989 - *The isolation and attenuation of a virus causing turkey rhinotracheitis in turkeys in South Africa*. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, vol. 56, p. 87-98.
26. Cadman H.F., Kelly P.J., Zhou R., Davelaar F. and Manson P.R., 1994 - *A serosurvey using ELISA for antibodies against poultry pathogens in ostriches (Struthio camelus) from Zimbabwe*. Avian Diseases, vol. 38, p. 621-625.
27. Cajal N., 1990 - *Tratat de virusologie veterinar*. Vol. 1, Editura Medical, București.
28. Carp-Cîrare M., 2001 - *Microbiologie veterinar*. Virusologie. Casa de Editur Venus, Iași.
29. Cauwerts K., De Herdt P., Haesebrouck F., Vervloesem J. and Ducatelle R., 2002 - *The effect of Ornithobacterium rhinotracheale vaccination of broiler breeder chickens on the performance of their progeny*. Avian Pathology, vol. 31, nr. 6, p. 619-624.
30. Charlton B., Channings-Santagio S., Bickford A., Cardona C., Chin R., Cooper G., Droual, R., Jeffrey, J., Meteyer, C., Shivaprasad, H., and Walker, R. (1993). *Preliminary characterization of a pleomorphic Gram-negative rod associated with avian respiratory disease*. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, vol. 5, p. 47-51.
31. Charlton B.R., 1999 - *Bordetella avium and Ornithobacterium rhinotracheale from California poultry submissions*. Proceeding of the Western Poultry Disease Conference, vol. 48, p. 80.
32. Hary P., Rautenschlein S., Njenga M.K. and Sharma J.M., 2002 - *Pathogenic and immunosuppressive effects of avian pneumovirus in turkeys*. Avian Diseases, vol. 46, p. 153-161.
33. Chin R.P., van Empel C.P. and Hafez H.M., 2013 - *Ornithobacterium rhinotracheale infection*. In: *Diseases of Poultry* (13th ed.). Editors: Swayne D.E., Glisson J.R., McDougald L.R., Nolan L.K., Suarez D.L., Nair V. Blackwell Publishing, MA, USA. P. 828-834.
34. Collins M.S. and Gough R.E., 1988 - *Characterization of a virus associated with rhinotracheitis*. Journal of General Virology, vol. 69, p. 909-916.
35. Collins M.S., Gough R.E., Alexander D.J., 1993 - *Antigenic differentiation of avian pneumovirus isolates using polyclonal antisera and mouse monoclonal antibodies*. Avian Pathology, vol. 22, p. 469-479.
36. Collins P.L., McIntosh K., Chanock R.M., 1996 - *Respiratory syncytial virus*. In *Field's Virology*, third ed. Fields B.N., Knipe D.M., Howley P.M. (Eds.), Lippincott-Raven.
37. Cook J.K.A., Ellis M.M. and Huggins M.B., 1991 - *The pathogenesis of turkey rhinotracheitis virus in turkey poults inoculated with the virus alone or together with two strains of bacteria*. Avian Pathology, vol. 20, p. 155-166.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

38. Cook J.K.A., 2000 - *Avian rhinotracheitis*. Scientific and Technical Review - OIE, vol. 19, p. 602–613.
39. Cook J.K.A. and Cavanagh D., 2002 - *Detection and differentiation of avian pneumoviruses (metapneumoviruses)*. Avian Pathology, vol. 31, p. 117-132.
40. Cook J.K.A., Ellis M.M., Ling L., Cavanagh D., 1993 – *Antigenic differentiation of strains of turkey rhinotracheitis virus using monoclonal antibodies*. Avian Pathology, vol. 22, p. 257-273.
41. Crespo R., Yamashiro S. and Hunter D.B., 1998 - *Development of the thoracic air sacs of turkeys with age and rearing conditions*. Avian Diseases, vol. 42, p. 35-44.
42. de Geus E.D., Jansen C.A. and Vervelde L., 2012 - *Uptake of particulate antigens in a nonmammalian lung: phenotypic and functional characterization of avian respiratory phagocytes using bacterial or viral antigens*. Journal of Immunology, vol. 188, p. 4516-4526.
43. De Herdt P., Broeckx M., Vankeirsbilck W., Van Den Abeele G. and Van Gorp S., 2012- *Improved broiler performance associated with Ornithobacterium rhinotracheale vaccination in breeders*. Avian Diseases, vol. 56, nr. 2, p. 365-368.
44. De Rosa M., Droual R., Chin R. and Shivaprasad H., 1997 - *Interaction of Ornithobacterium rhinotracheale and Bordetella avium in turkey poults*. In Proceedings of the 46th Western Poultry Disease Conference, Sacramento, p. 52-53.
45. De Rosa M., Droual R., Chin R., Shivaprasad H. and Walker R., 1996 - *Ornithobacterium rhinotracheale infection in turkey breeders*. Avian Diseases, vol. 40, p. 865-874.
46. Devriese L., Hommez J., Vandamme P., Kersters K. & Haesebrouck F., 1995 - *In vitro antibiotic sensitivity of Ornithobacterium rhinotracheale strains from poultry and wild birds*. Veterinary Record, vol. 137, p. 435-436.
47. Duncker H.R., 1972 - *Structure of avian lungs*. Respiration Physiology, vol. 14, nr. 1, p. 44–63.
48. Duncker H.R., 1971 - *The lung air sac system of birds*. Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology, vol. 45, p. 1–171.
49. Dyce K.M., Sack W.O., Wensing C.J.G., 2010 - *Textbook of Veterinary Anatomy*, 4th edition. Saunders Elsevier St. Louis MO.
50. Erbeck D.H. and McMurray B.L., 1998 - *Isolation of Georgia variant (Georgia isolate 1992) infectious bronchitis virus but not Ornithobacterium rhinotracheale from a Kentucky broiler complex*. Avian Diseases, vol. 42, p. 613–617.
51. Erf G.F., 2004 - *Cell-mediated immunity in poultry*. Poultry Science, vol. 83, p. 580-590.
52. Fagerland J.A. and Arp L.H., 1990 - *A morphologic study of bronchus-associated lymphoid tissue in turkeys*. American Journal of Anatomy, vol. 189, p. 24-34.
53. Fagerland J.A. and Arp L.H., 1993 - *Distribution and quantitation of plasma cells, T lymphocyte subsets, and B lymphocytes in bronchus-associated lymphoid tissue of chickens: age-related differences*. Regional Immunology, vol. 5, p. 28-36.
54. Fagerland J.A. and Arp L.H., 1993 - *Structure and development of bronchus-associated lymphoid tissue in conventionally reared broiler chickens*. Avian Diseases, vol. 37, p. 10-18.
55. Farner D.S., 1970 - *Some glimpses of comparative avian physiology*. Federation Proceedings, vol. 29, p. 1649–1663.
56. Fedde M.R., 1980 - *The structure and gas flow pattern in the avian lung*. Poultry Sciences, vol. 59, p. 2642–2653.
57. Fedde M.R., 1998 - *Relationship of structure and function of the avian respiratory system to disease susceptibility*. Poultry Sciences, vol. 77, p. 1130-1138.

58. Ficken M.D., Edwards J.F. and Lay J.C., 1986 - *Induction, collection, and partial characterization of induced respiratory macrophages of the turkey*. Avian Diseases, vol. 30, p. 766-771.
59. Ganapathy K., Cargill P., Montiel E. and Jones R.C., 2005 - *Interaction between live avian pneumovirus and newcastle disease virus vaccines in specific pathogen free chickens*. Avian Pathology, 34, 297-302.
60. Garmyn A., Martel A., Froyman R., Nauwynck H., Duchateau L., Haesebrouck F. and Pasmans F., 2009 - *The effect of reduced treatment time and dosage of enrofloxacin on the course of respiratory disease caused by avian metapneumovirus and Ornithobacterium rhinotracheale*. Poultry Sciences, vol. 88, p. 2315-23.
61. Gaunson J.E., Philip C.J., Whithear K.G. and Browning G.F., 2000 - *Lymphocytic infiltration in the chicken trachea in response to Mycoplasma gallisepticum infection*. Microbiology, vol. 146, p. 1223-1229.
62. Gaunson J.E., Philip C.J., Whithear K.G. and Browning G.F., 2006 - *The cellular immune response in the tracheal mucosa to Mycoplasma gallisepticum in vaccinated and unvaccinated chickens in the acute and chronic stages of disease*. Vaccine, vol. 24, p. 2627-2633.
63. Giraud P., Bennejean G., Guittet M., and Toquin D., 1986 - *Turkey rhinotracheitis in France: Preliminary investigations on a ciliostatic virus*. Veterinary Record, vol. 119, p. 606-607.
64. Glisson J.R., 1998 - *Bacterial respiratory disease of poultry*. Poultry Sciences, vol. 77, p. 1139-1142.
65. Goovaerts D., Vrijenhoek M., and van Empel P., 1998 - *Immunohistochemical and bacteriological investigation of the pathogenesis of Ornithobacterium rhinotracheale infection in South Africa in chickens with osteitis and encephalitis syndrome*. Proceeding Meeting of the European Society of Veterinary Pathology, vol. 46, p. 81.
66. Gornatti Churria C.D., Machuca M.A., Vigo G.B. and Petrucelli M.A., 2012 - *Ornithobacterium rhinotracheale in poultry: an updated review*. International Journal of Molecular Zoology, vol. 2, nr. 33, p. 23-38.
67. Gough R.E. and J.C. Pedersen, 2008 - *Avian metapneumovirus*. In: *Isolation and Identification of Avian Pathogens*. L. Dufour-Zavala, D.E. Swayne, M.W. Jackwood, J.E. Pearson, W.M. Reed, and P. Woolcock, eds. American Association of Avian Pathologists, Jacksonville, Florida, p. 142-145.
68. Gough R.E., Collins M.S., Cox W.J. and Chettle N.J., 1988 - *Experimental infection of turkeys, chickens, ducks, guinea-fowl, pheasants and pigeons with turkey rhinotracheitis virus*. Veterinary Record, vol. 123, p. 58-59.
69. Gough R.E., Drury S.E., Aldous E. and Laing P.W., 2001 - *Isolation and identification of an avian pneumovirus from pheasants*. Veterinary Record, vol. 149, p. 312.
70. Goyal S.M., Chiang S.J., Dar A.M., Nagaraja K.V., Shaw D.P., Halvorson D.A., and Kapur V., 2000 - *Isolation of avian pneumovirus from an outbreak of respiratory illness in Minnesota turkeys*. Journal of Veterinary Diagnostic and Investigation, vol. 12, p. 166-168.
71. Hafez H.M., 2014 - *Turkey diseases requiring antimicrobial control*. World Poultry magazine, vol. 30(5).
72. Hafez H.M., 2002 - *Diagnosis of Ornithobacterium rhinotracheale*. International Journal of Poultry Science, vol. 1, p. 114-118.
73. Hafez H.M., 1998 - *Respiratory diseases in turkey: Serological surveillance for antibodies against Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) and turkey rhinotracheitis (TRT)*. Proceeding to International Symposium on Turkey Diseases, vol. 1, 138-145.
74. Hafez H.M., 1996 - *Current status on the role of Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) in respiratory disease complexes in poultry*. Archiv fuer Gefluegelkunde, vol. 60, p. 208-211.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

75. Hafez H.M., Kruse W., Emele J. and Sting R., 1993 - *Eine Atemwegsinfektion bei Mastputen durch Pasteurella-ähnliche Erreger: Klinik, Diagnostik und Therapie*. In: Proceeding to International Conference on Poultry Diseases, Potsdam, Germany, 105–112.
76. Hartle S. and Kasper B., 2014 - *The Avian Respiratory Immune System*. In: *Avian Immunology*. 2nd Edition, Ed. Schot K.A., Kasper B. and Kaiser P. Elsevier Ltd.
77. Hayter R.B. and Besch E.L., 1974 - *Airborne particle deposition in the respiratory tract of chickens*. Poultry Sciences, vol. 53, p. 1507-1511.
78. Heffels-Redmann U., Neumann U., Branne S., Cook J.K.A. and J. Pruter., 1998 - *Serological evidence for susceptibility of sea gulls to avian pneumovirus (APV) infection*. Proceedings International Symposium on Infectious Bronchitis and Pneumovirus Infections in Poultry. U. Heffels-Redmann and E. Kaleta, eds. Rauschholzhausen, Germany, 23–25.
79. Hinz K.H. and Hafez H.M., 1997 - *The early history of Ornithobacterium rhinotracheale (ORT)*. Archiv fuer Gefluegel Kunde, vol. 61, p. 95–96.
80. International Committee on Taxonomy on Viruses, 2012 - *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, Waltham, MA.
81. James A.E., Hutchings G., Bush M. et al., 1976 - *How birds breathe: correlation of radiographic with anatomical and pathological studies*. Journal of the American Veterinary Radiology Society, vol. 17, p. 77–86.
82. Jeurissen S.H., Janse E.M., Koch G. and De Boer G.F., 1989 - *Postnatal development of mucosa-associated lymphoid tissues in chickens*. Cell Tissue Research, vol. 258, p. 119-124.
83. Jeurissen S.H., Vervelde L. and Janse M.E., 1994 - *Structure and function of lymphoid tissues of the chicken*. Poultry Science Review, vol. 5, p. 183-207.
84. Jirjis F.F., Noll S.L., Halvorson D.A., Nagaraja K.V., Martin F. and Shaw D.P., 2004 - *Effects of bacterial coinfection on the pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys*. Avian Diseases, vol. 48, p. 34–49.
85. Jones J.H., Effmann E.L. and Schmidt-Nielsen K., 1985 - *Lung volume changes during respiration in ducks*. Respiration Physiology, vol. 59, p. 15-25.
86. Jones R.C., 1996 - *Avian pneumovirus infection: questions still unanswered*. Avian Pathology, vol. 25, p. 639–648.
87. Jones R.C., Baxter-Jones C., Wilding G.P. and Kelly D.F., 1986 - *Demonstration of a candidate virus for turkey rhinotracheitis in experimentally inoculated turkeys*. Veterinary Record, vol. 119, p. 599–600.
88. Jones R.C., Williams R.A., Baxter-Jones C., Savage C.E. and Wilding G.P., 1988 - *Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis virus: distribution of virus in the tissues and serological response*. Avian Pathology, vol. 17, p. 841–850.
89. Jubb K., Kennedy P., Palmer N., 2007 - *Pathology of Domestic Animals*, 5th edition, Editura Saunders Ltd.
90. Kaiser O. and Balic A., 2015 - *The avian immune system*. In: *Strurkie's Physiology*, 6th edition. Ed. Scanes CG. Elsevier Inc.
91. Kaiser P., Poh T.Y., Rothwell L., Avery S., Balu S., Pathania U.S., Hughes S., Goodchild M., Morrell S., Watson M., Bumstead N., Kaufman J., Young J.R., 2005 - *A genomic analysis of chicken cytokines and chemokines*. Journal of Interferon and Cytokine Research, vol. 25, p. 467–484.
92. Kariuki Njenga M., Humphrey M.L., Sea B.S., 2003 - *Metapneumoviruses in birds and humans*. Virus Research, vol. 91, p.163-169.
93. Kaufman J., Milne S., Gobel T.W.F., Walker B.A., Jacob J.P., Auffray C., Zoorob R., Beck S., 1999 - *The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex*. Nature, vol. 401, p. 923–925.

94. Kayali G., Ortiz E.J., Chorazy M.L., Nagaraja K.V., DeBeauchamp J., Webby R.J. and G.C. Gray, 2011 - *Serologic evidence of avian metapneumovirus infection among adults occupationally exposed to turkeys*. Vector Borne Zoonotic Diseases, vol. 11, p. 1453–1459.
95. King A.S. and V. Molony, 1971 - *The anatomy of respiration*. In: *Physiology and Biochemistry of Domestic Fowl*. Vol. 1, Ed. O.J. Bell and B.M. Freeman, New York, Academic Press.
96. Klika E., Scheuermann D.W., De Groodt-Lasseel M.H., Bazantova I. and Switka A., 1996 - *Pulmonary macrophages in birds (barn owl, *Tyto tyto alba*), domestic fowl (*Gallus gallus f. domestica*), quail (*Coturnix coturnix*), and pigeons (*Columbia livia*)*. Anatomy Record, vol. 246, vol. 87-97.
97. Kowalski W.J., Malkinson M., Leslie G.A. and Small P.A., 1978 - *The secretory immunological system of the fowl*. VI. *The effect of chemical bursectomy on immunoglobulin concentration in tears*. Immunology, vol. 34, p. 663-667.
98. Lee E.H., Song M.S., Shin J.Y., Lee Y. M., Kim C.J., Lee Y.S., Kim H. and Choi Y.K., 2007 - *Genetic characterization of avian metapneumovirus subtype C isolated from pheasants in a live bird market*. Virus Research, vol. 128, p. 18–25.
99. Leroy-Setrin S., Flaujac G., Theanaisy K. & Chaslus-Dancla E., 1998 - *Genetic diversity of *Ornithobacterium rhinotracheale* strains isolated from poultry in France*. Letters in Applied Microbiology, vol. 26, 189-193.
100. Ling R., Easton A.J., Pringle C.R., 1992 - *Sequence analysis of the 22K, SH and G genes of turkey rhinotracheitis virus and their intergenic regions reveal a gene order different from that of other pneumoviruses*. Journal of General Virology, vol. 73, p. 1709-1715.
101. Lister S.A., 1998 - *Current experiences with respiratory diseases in meat turkeys in the U.K.* In: 1st International Symposium on Turkey Diseases. H.M. Hafez, ed. German Veterinary Medicine Society, Berlin. 104–113.
102. Lopes V., Velayudhan B., Halvorson D.A. and Nagaraja K.V., 2002 - *Survival of *Ornithobacterium rhinotracheale* in sterilized poultry litter*. Avian Diseases, vol. 46, p. 1011–1014.
103. Lorz C. and Lopez J., 1997 - *Incidence of air pollution in the pulmonary surfactant system of the pigeon (*Columba livia*)*. Anatomy Record, vol. 249, p. 206-212.
104. Ludders J.W., 2001 - *Inhaled Anesthesia for Birds*. In: *Recent Advances in Veterinary Anesthesia and Analgesia: Companion Animals*. R.D. Gleed and J. W. Ludders, eds. International Veterinary Information Service, Ithaca, NY.
105. Mahy W.B. and al., 2008 – *Encyclopedia of virology*, third edition. Academic Press, Elsevier.
106. Maina J.N., 2006 - *Development, structure, and function of a novel respiratory organ, the lung-air sac system of birds: to go where no other vertebrate has gone*. Biology Review, vol. 81, p. 545–579.
107. Maina N.J., 2015 - *The design of the avian respiratory system: development, morphology and function*. Journal of Ornithology, DOI 10.1007/s10336-015-1263-9
108. Maina J.N., 2002 - *Some recent advances on the study and understanding of the functional design of the avian lung: morphological and morphometric perspectives*. Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society, vol. 77, p. 97-152.
109. Maina J.N. and Nathaniel C., 2001 - *A qualitative and quantitative study of the lung of an ostrich, *Struthio camelus**. Journal of Experimental Biology, vol. 204, p. 2313-2330.
110. Maina J.N. and Cowley H.M., 1998 - *Ultrastructural characterization of the pulmonary cellular defenses in the lung of a bird, the rock dove, *Columba livia**. Proceedings of the Royal Society of London, vol. 265, p. 1567-1572.
111. Maina J.N. and John B. West, 2005 - *Thin and strong! The bioengineering dilemma in the structural and functional design of the bloodgas barrier*. Physiology Review, vol. 85, p. 811-844.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

112. Maina J.N. 1989 - *The morphometry of the avian lung*. In: *Form and Function in Birds*. A.S. King and J. McLelland, eds. Academic Press, London.
113. Majó N., Allan G.M., O'Loan C.J., Pagès A. and Ramis A., 1995 - *A sequential histopathologic and immunohistochemical study of chickens, turkey poults and broiler breeders experimentally infected with turkey rhinotracheitis virus*. *Avian Diseases*, vol. 39, p. 887-896.
114. Marien M., 2006 - *Mixed respiratory infections in turkeys, with emphasis on avian metapneumovirus, Ornithobacterium rhinotracheale, Escherichia coli and Mycoplasma gallisepticum*. PhD Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ghent.
115. McDougall J.S. and Cook J.K.A., 1986 - *Turkey rhinotracheitis: preliminary investigations*. *Veterinary Record*, vol. 118, p. 206-207.
116. McLelland J., 1989 - *Anatomy of the lungs and air sacs*. In: *Form and Function in Birds*, King A.S. and McLelland J., eds., vol. IV, p. 221-280, Academic Press, London.
117. McLelland J. and MacFarlane C.J., 1986 - *Solitary granular endocrine cells and neuroepithelial bodies in the lungs of the ringed turtle dove (Streptopelia risoria)*. *Journal of Anatomy*, vol. 147, p. 83-93.
118. Mekkes D.R. and de Wit J.J., 1998 - *Comparison of three commercial ELISA kits for the detection of rhinotracheitis virus antibodies*. *Avian Pathology*, vol. 27. P. 301-305.
119. Mensah G.A. and Brain J.D., 1982 - *Deposition and clearance of inhaled aerosol in the respiratory tract of chickens*. *Journal of Applied Physiology*, vol. 53, p. 1423-1428.
120. Moga-Mânzat R., 2005 - *Boli virotice și prionice la animale*. Editura Brumar, Timișoara.
121. Murphy F.A., Gibbs E.P., Horzinek M., 1999 - *Veterinary Virology*. 3rd. Editura Academic Press, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto.
122. Murthy T.R., Dorairajan N., Balasubramaniam G.A., Dinakaran A.M. and Kalaimathi R., 2007 - *The effect of vaccination of pullets against Ornithobacterium rhinotracheale infection*. *Avian Pathology*, vol. 36, p. 481-485.
123. Myers R.K. and Arp L.H., 1987 - *Pulmonary clearance and lesions of lung and air sac in passively immunized and unimmunized turkeys following exposure to aerosolized Escherichia coli*. *Avian Diseases*, vol. 31, p. 622-628.
124. Nagaraja K., Back A., Sorenger S., Rajashekara G. and Halvorson D., 1998 - *Tissue distribution post-infection and antimicrobial sensitivity of Ornithobacterium rhinotracheale*. In *Proceedings of the 47th Western Poultry Disease Conference*, Sacramento, p. 57-60.
125. Naylor C.J., Jones R.C., 1993 - *Turkey rhinotracheitis: a review*. *Veterinary Bulletin*, vol. 63, p. 339-349.
126. Njenga M.K., Lwamba H.M. and Seal B.S., 2003 - *Metapneumoviruses in birds and humans*. *Virus Research*, vol. 91, p. 163-169.
127. Olah I., Kupper A. and Kittner Z., 1996 - *The lymphoid substance of the chicken's harderian gland is organized in two histologically distinct compartments*. *Microscopy Research and Technique*, vol. 34, p. 166-176.
128. Orange J.S., Fassett M.S., Koopman L.A., Boyson J.E., Strominger J.L., 2002 - *Viral evasion of natural killer cells*. *Nature Immunology*, vol. 3, p. 1006-1012.
129. Oshima K. and Hiramatsu K., 2000 - *Distribution of T-cell subsets and immunoglobulin-containing cells in nasal-associated lymphoid tissue (NALT) of chicken*. *Histology and Histopathology*, vol. 15, p. 713-720.
130. Pedersen J.C., Senne D.A., Woolcock P.R., Kinde H., King D.J., Wise M.G., Panigrahy B., and Seal B.S., 2004 - *Phylogenetic relationships among virulent Newcastle disease virus isolates from the 2002-2003 outbreak in California and other recent outbreaks in North America*. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 42, p. 2329-2334.
131. Perianu T., 2012 - *Tratat de Boli Infecțioase ale Animalelor: Viroze și Boli Prionice*, vol. 2. Editura Universitas XXI, Iași.

132. Powell F.L., Scheid P., 1989 - *Physiology of gas exchange in the avian respiratory system*. In: *Form and function in birds*, vol 4. King A.S., McLelland J. (eds), Academic Press, London, p. 393–437.
133. Powell F.L., 2000 - *Respiration*. In: *Avian Physiology*, fifth edition, G. Causey Whittow, ed. Academic Press, New York, NY, p. 233–264.
134. Pringle C.R. 1998 - *Virus taxonomy*. Archives of Virology, vol. 143, p. 1449–1459.
135. Quinn P.J. and Markey B.K., 2009 – *Concise review of veterinary microbiology*. Second edition. Editura Blackwell Publishing.
136. Rauw F., Gardin Y., Palya V., van Borm S., Gonze M., Lemaire S., van den Berg T. and Lambrecht B., 2009 - *Humoral, cell-mediated and mucosal immunity induced by oculo-nasal vaccination of one-day-old SPF and conventional layer chicks with two different live Newcastle disease vaccines*. Vaccine, vol. 27, p. 3631–42.
137. Reese S., Dalamani G. and Kaspers B., 2006 - *The avian lung-associated immune system: a review*. Veterinary Research, vol. 37, nr. 3, p. 311–24.
138. Roepke D.C., 2001 - Unpublished data.
139. Roepke D.C., Back A., Shaw D.P., Nagaraja K.V., Sprenger S.J. and Halvorson D.A., 1998 - *Isolation and identification of Ornithobacterium rhinotracheale from commercial turkey flocks in the upper Midwest*. Avian Diseases, vol. 42, p. 219–221.
140. Roger M.F. and Leorat J., 1997 - *A l' origine de troubles respiratoires chez la dinde: Ornithobacterium rhinotracheale est mieux maîtrisé*. Filière Avicole Juin, p. 62–63.
141. Rose M.E., 1981 - *Lymphatic system*. In: *Form and Function in Birds*, King A.S. and McLelland J., eds. vol. 2, Academic Press, London, p. 341–384.
142. Russell P.H., 1993 - *Newcastle disease virus: virus replication in the harderian gland stimulates lacrimal IgA; the yolk sac provides early lacrimal IgG*. Veterinary Immunology and Immunopathology, vol. 37, p. 151–163.
143. Scanes C.G., 2015 – *Sturkie's avian physiology*, 6th edition. Academic Press Elsevier, London.
144. Scheid P., Piiper J., 1970 - *Analysis of gas exchange in the avian lung: theory and experiments in the domestic fowl*. Respiration Physiology, vol. 9, nr. 2, p. 246–262.
145. Scheuermann D.W., Klika E., Lasseel D.G., Bazantova I. and Switka A., 1997 - *An electron microscopic study of the parabronchial epithelium in the mature lung of four bird species*. Anatomy Record, vol. 249, p. 213–225.
146. Schneider K., Puehler F., Baeuerle D., Elvers S., Staeheli P., Kaspers B., Weining K.C., 2000 - *cDNA cloning of biologically active chicken interleukin-18*. Journal of Interferon and Cytokine Research, vol. 20, p. 879–883.
147. Schuijffel D.F., van Empel P.C., Pennings A.M., van Putten J.P. and Nuijten P.J., 2005 - *Successful selection of cross-protective vaccine candidates for Ornithobacterium rhinotracheale infection*. Infection and Immunity, vol. 73, nr. 10, p. 6812–6821.
148. Schuijffel D.F., van Empel P.C., Segers R.P., Van Putten J.P. and Nuijten P.J., 2006 - *Vaccine potential of recombinant Ornithobacterium rhinotracheale antigens*. Vaccine, vol. 24, p. 1858–1867.
149. Senne D.A., Edson R.K., Pedersen J.C., Panigrahy B., 1997 - *Avian pneumovirus update*. Proceedings of American Veterinary Medical Association 134th Annual Congress, Reno, NV, USA, p. 190.
150. Sharma S.N., Adlakha S.C., 2009 – *Textbook of veterinary virology*. Editura International Book Distributing Co., New Delhi.
151. Shin H.J., Nagaraja K.V., McComb B., Halvorson D.A., Jirjis F.F., Shaw D.P., Seal B.S., Njenga M.K., 2002 - *Isolation of avian pneumovirus from mallard ducks that is genetically similar to viruses isolated from neighboring commercial turkeys*. Virus Research, vol. 83, p. 207–212.
152. Snoeck V., Peters I.R. and Cox E., 2006 - *The IgA system: a comparison of structure and function in different species*. Veterinary Research, vol. 37, p. 455–467.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

153. Sprenger S.J., Back A., Shaw D.P., Nagaraja K.V., Roepke D.C. and Halvorson D.A., 1998 - *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in turkeys: experimental reproduction of the disease. Avian Diseases, vol. 42, p. 154–161.
154. Sprenger S.J., Halvorson D.A., Nagaraja K.V., Spasojevic R., Dutton R.S. and Shaw D.P., 2000 - *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in commercial laying-type chickens. Avian Diseases, vol. 44, p. 725–729.
155. Stearns R.C., Barnas G.M., Walski M. and Brain J.D., 1987 - *Deposition and phagocytosis of inhaled particles in the gas exchange region of the duck, Anas platyrhynchos*. Respiration Physiology, vol. 67, p. 23–36.
156. Stuart J.C., 1989 - *Rhinotracheitis: Turkey Rhinotracheitis (TRT) in Great Britain*. Recent Advances in Turkey Science, Poultry Science Symposium, Series No. 21, London, UK, p. 217–224.
157. Sturkie P.D., 1986 - *Avian Physiology*. Springer, New York.
158. Suresh P. and Arp L.H., 1995 - *A time-course study of the transfer of immunoglobulin G from blood to tracheal and lacrimal secretions in young turkeys*. Avian Diseases, vol. 39, p. 349–354.
159. Survashe B.D. and Aitken I.D., 1977 - *Removal of the lachrymal gland and ligation of the Harderian gland duct in the fowl (Gallus domesticus): procedures and sequelae*. Research in Veterinary Sciences, vol. 22, p. 113–119.
160. Swayne D.E. and Glisson J.R., 2013 - *Diseases of Poultry*. 13th Edition. Publisher John Wiley & Sons, Inc.
161. Szalay D., Glavits R., Nemes C., Kosa A. and Fodor L., 2002 - *Clinical signs and mortality caused by Ornithobacterium rhinotracheale in turkey flocks*. Acta Veterinaria Hungarica, vol. 50, p. 297–305.
162. Tahseen A., 1997 - *Ornithobacterium rhinotracheale* developing into a serious infection. World Poultry Misset, vol. 13, p. 47–48.
163. Tanaka M., Takuma H., Kokumai N., Oishi E., Obi T., Hiramatsu K., Shimizu Y., 1995 - *Turkey rhinotracheitis virus isolated from broiler chicken with swollen head syndrome in Japan*. Journal of Veterinary and Medical Sciences, vol. 57, p. 939–941.
164. Toquin D., Bayon-Auboyer M.H., Etteradossi N., Morin H. and Jestin V., 1999 - *Isolation of a pneumovirus from a Muscovy duck*. Veterinary Record, vol. 145, p. 680.
165. Toquin D., De Boisseson C., Beven V., Senne D.A. and Etteradossi N., 2003 - *Subgroup C avian metapneumovirus (MPV) and the recently isolated human MPV exhibit a common organization but have extensive sequence divergence in their putative SH and G genes*. Journal of General Virology, vol. 84, p. 2169–2178.
166. Toro H., Lavaud P., Vallejos P. and Ferreira A., 1993 - *Transfer of IgG from serum to lachrymal fluid in chickens*. Avian Diseases, vol. 37, p. 60–66.
167. Toth T.E. and Siegel P.B., 1986 - *Cellular defense of the avian respiratory tract: paucity of free-residing macrophages in the normal chicken*. Avian Diseases, vol. 30, p. 67–75.
168. Turpin E.A., Stallknecht D.E., Slemons R.D., Zsak L. and Swayne D.E., 2008 - *Evidence of avian metapneumovirus subtype C infection of wild birds in Georgia, South Carolina, Arkansas and Ohio, USA*. Avian Pathology, vol. 37, p. 343–351.
169. Van Alstine W.G. and Arp L.H., 1988 - *Histologic evaluation of lung and bronchus-associated lymphoid tissue in young turkeys infected with Bordetella avium*. American Journal of Veterinary Research, vol. 49, p. 835–839.
170. Van Boheemen S., Bestebroer T.M., Verhagen J.H., Osterhaus A.D., Pas S.D., Herfst S. and Fouchier R.A., 2012 - *A family- wide rt-PCR assay for detection of paramyxoviruses and application to a large-scale surveillance study*. PLoS One, vol. 7, p. 349–61.

171. Van de Zande S., Nauwynck H., de Jonghe S. and Pensaert M., 1999 - *Comparative pathogenesis of a subtype A with a subtype B avian pneumovirus in turkeys*. Avian Pathology, vol. 28, p. 239–244.
172. Van De Zande S., Nauwynck H., Naylor C. and Pensaert M., 2000 - *Duration of cross-protection between subtypes A and B avian pneumovirus in turkeys*. Veterinary Record, vol. 147, p. 132–134.
173. Van den Hoogen B.G., de Jong J.C., Groen J., Kuiken T., de Groot R., Fouchier R.A.M. and Osterhaus A.D., 2001 - *A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease*. Nature Medicine, vol. 7, 719–724.
174. Van Empel P.C.M. and Hafez H.M., 1999 - *Ornithobacterium rhinotracheale: A review*. Avian Pathology, vol. 28, nr. 3, p. 217–227.
175. Van Empel P. and van den Bosch H., 1998 - *Vaccination of chickens against Ornithobacterium rhinotracheale infection*. Avian Diseases, vol. 42, nr. 3, p. 572–578.
176. Van Empel P., van den Bosch H., Goovaerts D. and Storm P., 1996 - *Experimental infection in turkeys and chickens with Ornithobacterium rhinotracheale*. Avian Diseases, vol. 40, p. 858–864.
177. Van Empel P.C.M., 1997 - *Ornithobacterium rhinotracheale: an update*. In Proceedings of the 52nd meeting of the Fachgruppe GeuE gelkrankheiten' der Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Hannover, p. 20–25.
178. Van Ginkel F.W., Gulley S.L., Lammers A., Hoerr F.J., Gurjar R. and Toro H., 2012 - *Conjunctiva-associated lymphoid tissue in avian mucosal immunity*. Developmental and Comparative Immunology, vol. 36, p. 289–297.
179. Van Looock M., Loots K., Zande S., Heerden M.V., Nauwynck H., Goddeeris B.M., Vanrompay D., 2006 - *Pathogenic interactions between Chlamydophila psittaci and avian pneumovirus infections in turkeys*. Veterinary Microbiology, vol. 10, p. 53–63.
180. Van Looock M., Geens T., De Smit L., Nauwynck H., van Empel P., Naylor C., Hafez H.M., Goddeeris B.M. and Vanrompay D., 2005 - *Key role of Chlamydophila psittaci on Belgian turkey farms in association with other respiratory pathogens*. Veterinary Microbiology, vol. 107, p. 91–101.
181. Van Veen L., van Empel P., and Fabri T., 2000 - *Ornithobacterium rhinotracheale, a primary pathogen in broilers*. Avian Diseases, vol. 44, p. 896–900.
182. Vandamme P., Segers P., Vancanneyt M., van Hove K., Mutters R., Hommez J., Dewhirst F., Paster B., Kersters K., Falsen E., Devriese L.A., Bisgaard M., Hinz K.H. and Mannheim W., 1994 - *Ornithobacterium rhinotracheale gen. nov., sp. nov., isolated from the avian respiratory tract*. International Journal of Systematic Bacteriology, vol. 44, p. 24–37.
183. Vasiu C., 2003 – *Viroze și boli prionice la animale*. Editura Nereamia Napocae, Cluj-Napoca.
184. Velayudhan B.T., Nagaraja K.M., Thachil A.J., Shaw D.P., Gray G.C. and Halvorson D.A., 2006 - *Human metapneumovirus in turkey poults*. Emerging Infectious Diseases, vol. 12, p. 1853–1859.
185. Velescu E., 2004 – *Patologia bolilor infecțioase la animale*. Ediția a II-a. Editura Terra Nostra. Iași.
186. Villegas P., 1998 - *Viral diseases of the respiratory system*. Poultry Sciences, vol. 77, p. 1143–1145.
187. Watteyn A., 2016 - *Efficacy of florfenicol and gamithromycin in an Ornithobacterium rhinotracheale infection model in turkeys: a pharmacokinetic/pharmacodynamic integration*. PhD thesis, Faculty of Veterinary Medicine – Ghent University.
188. Webster G.R. and Granoff A., 1994 - *Encyclopedia of Virology*, vol. 2 și 3, Editura Academic Press Ltd., USA.
189. Weining K.C., Sick C., Kaspers B., Staeheli P., 1998 - *A chicken homolog of mammalian interleukin-1 β : cDNA cloning and purification of active recombinant protein*. European Journal of Biochemistry, vol. 258, p. 994–1000.

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

190. Welty J.C. and Baptista L., 1988 - *The life of birds*, fourth edition. Saunders College Publishing, New York.
191. Whittow G.C., 2000 - *Avian Physiology*, fifth edition. Springer-Verlag, Berlin.
192. Wilding G.P., Baxter-Jones C. and Grant M., 1986 - *Ciliostatic agent found in rhinotracheitis*. Veterinary Record, vol. 118, p. 735.
193. Woodward J.D. and Maina J.N., 2008 - *Study of the structure of the air- and blood capillaries of the gas exchange tissue of the avian lung by serial section three-dimensional reconstruction*. Journal of Microscopy, vol. 230, p. 84–93.
194. Wyeth P.J., Gough R.E., Collins M.S., 1987 - *Antibodies to TRT in chicken with swollen head syndrome*. Veterinary Record, vol. 120, p. 286-287.
195. Yu Q., Davis P.J., Li J., Cavanagh D., 1992 - *Cloning and sequencing of the matrix protein (M) gene of turkey rhinotracheitis virus reveal a gene order different from that of respiratory syncytial virus*. Virology, vol. 186, p. 426-434.
196. Zahra M., Ferreri M., Alkasir R., Yin J., Han B. and Su B., 2013 - *Isolation and characterization of small-colony variants of Ornithobacterium rhinotracheale*. Journal of Clinical Microbiology, vol. 51, nr. 10, p. 3228-3236.
197. Zorman-Rojs O., Adovc I., Bencina D. and Mrzel I., 2000 - *Infection of turkeys with Ornithobacterium rhinotracheale and Mycoplasma synoviae*. Avian Diseases, vol. 44, p. 1017–1022.
198. *<http://numbat.murdoch.edu.au/Anatomy/avian/fig3.2.GIF>
199. *<http://www.Internationalpoultrycouncil.org/documents/TopTurkeyProduction.pdf>
200. *<http://www.poultrymed.com/Poultrymed/Templates/showpage.asp?DBI=1&LNGID=1&TMID=103&FID=1528>

ANEXE

Lista tabelelor

- Tabelul 5.1. Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2010
 Tabelul 5.2. Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2011
 Tabelul 5.3. Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2012
 Tabelul 5.4. Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2013
 Tabelul 5.5. Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2014
 Tabelul 5.6. Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2015
 Tabelul 5.7. Mortalitatea înregistrată la hibrizii de curcă în anul 2016
 Tabelul 5.8. Mortalitatea corelată cu vârsta-Ghid de creștere
 Tabelul 7.1. Interpretarea rezultatelor la ELISA TRT
 Tabelul 7.2. Interpretarea rezultatelor la ELISA *Ornitobacterium rinotracheale*
 Tabelul 7.3. Reagenți utilizați
 Tabelul 7.4. Reagenți utilizați
 Tabelul 7.5. Reagenți și condiții de păstrare
 Tabelul 7.6. Calcul Mix APV RT-PCR
 Tabelul 7.7. Protocol RT-PCR APV
 Tabelul 7.8. Protocol RT-PCR
 Tabelul 7.9. Interpretarea rezultatelor
 Tabelul 7.10. Protocol vaccinare curcani Agro Nariman
 Tabelul 7.11. Protocol vaccinare curcani Agro Nariman (2)
 Tabelul 7.12. Agenți patogeni identificați la curcanii cu semne respiratorii
 Tabelul 7.13. Protocol imunizare curcani ferma Cărpiniș
 Tabelul 7.14. Protocol imunizare TRT ferma Cărpiniș (screening 2)
 Tabelul 7.15. Protocol imunizare TRT ferma Cărpiniș (screening 3)
 Tabelul 7.16. Protocol imunizare Ferma 6 (1)
 Tabelul 7.17. Protocol imunizare Ferma 6 (2)
 Tabelul 7.18. Protocol vaccinare curcani Romad Otis (1)
 Tabelul 7.19. Protocol imunizare Romad Otis (2)
 Tabelul 7.20. Protocol imunizare TRT la Romad Otis (3)
 Tabelul 7.21. Protocol imunizare ORT Romad Otis (screening 2)
 Tabelul 7.22. Protocol imunizare TRT la Ferma 1 (screening 1)
 Tabelul 7.23. Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 1 (screening 3)
 Tabelul 7.24. Protocol imunizare ORT Romad Otis (screening 2)
 Tabelul 7.25. Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 2 (screening 2)
 Tabelul 7.26. Rezultate obținute RT-PCR la Ferma 2 pentru TRT(screening 1)
 Tabelul 7. 27. Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 2 (screening 2)
 Tabelul 7.28. Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 2 (screening 3)
 Tabelul 7.29. Protocol imunizare ORT la Ferma 2 (screening 1)
 Tabelul 7.30. Rezultate obținute RT-PCR la Ferma 2 pentru ORT (screening 1)
 Tabelul 7.31. Protocol imunizare TRT la Ferma 5 (screening 1)
 Tabelul 7.32. Protocol imunizare pentru TRT la Ferma 5 (screening 2)
 Tabelul 7.33. Rezultate TRT pentru ELISA și PCR la Ferma 5 (screening 2)

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Tabelul 7.34. Rezultate TRT pentru ELISA și PCR la Ferma 5 (screening 3)

Tabelul 7.35. Protocol imunizare ORT la Ferma 5 (screening 1)

Tabelul 7.36. Rezultate ORT pentru ELISA și PCR la Ferma 5 (screening 2)

Tabelul 8.1. Valoarea costurilor cu medicatie pe fiecare fermă

Tabelul 8.2. Costuri înregistrate la fiecare fermă cu imunizarea TRT și ORT

Lista figuri

Fig.1.1: Structura aparatului respirator la păsări

Fig.1.2: Circulația aerului prin sistemul respirator în timpul inspirației (stânga) și expirației (dreapta)

Fig.1.3: Reprezentarea schematică a direcției circulației aerului prin aparatul respirator aviar în timpul inspirației (A) și expirației (B)

Fig.2.1: Semne clinice în rinotraheita curcilor la pui, tineret și la adulți

Fig.2.2: Inflamația severă a pulmonului la curcan

Fig.5.1. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2010 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.2. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2010 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.3. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2011 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.4. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2011 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.5. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2012 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.6. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2012 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.7. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2013 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.8. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2013 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.9. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2014 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.10. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2014 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.11. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2015 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.12. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2015 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.13. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curci în 2016 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.14. Cinetica procentului de mortalitate înregistrat la curcani în 2016 raportat la ghidul practicanților veterinari

Fig.5.15. Rata mortalității pe toată durata efectuării studiului (2010-2016)

Fig.5.16. Evoluția indicatorului mortalitate raportat la unitatea de creștere

Fig.5.17. Valoarea mediană a mortalității înregistrată la cei mai utilizați hibrizi pe toată durata efectuării studiului (curci)

- Fig.5.18. Valoarea mediană a mortalității înregistrată la cei mai utilizați hibrizi pe toată durata efectuării studiului (curcani)
- Fig.5.19. Mortalitatea în funcție de sursa de material genetic utilizat (curci)
- Fig.5.20. Mortalitatea în funcție de sursa de material genetic utilizat (curcani)
- Fig.5.21. Prevalența mortalității în funcție de perioada de creștere la curci
- Fig.5.22. Prevalența mortalității în funcție de perioada de creștere la curcani
- Fig. 6.1. (a și b) Lipsa mobilității la curcani (original)
- Fig. 6.2. Adunarea puilor de curcă în apropierea surselor de căldură (original)
- Fig. 6.3. Stare de prostrație (original)
- Fig.6.4. Edem submandibular (original)
- Fig. 6.5.(a și b) Edemul dur al capului (original)
- Fig. 6.6. (a și b) Sinuzită infraorbitară monolaterală (original)
- Fig. 6.7. (a și b) Sinuzită infraorbitară bilaterală (original)
- Fig. 6.8. Conjunctivită spumoasă (original)
- Fig. 6.9. Stare de agonie (original)
- Fig. 6.10. (a și b) Conjunctivită spumoasă (original)
- Fig. 6.11. Depozite serofibrinoase la nivelul capului (original)
- Fig.6.12. Poliserozita fibrinoasă (original)
- Fig.6.13. Infiltrația celulelor limfoide din epiteliul traheal (HEA X 200)
- Fig.6.14. Tuse uscată în diferite faze (original)
- Fig.6.15. Tuse umedă cu expectorații (original)
- Fig.6.16. Stare de prostrație (original)
- Fig.6.17. Respirație bucală (original)
- Fig.6.18. Evoluție supraacută (original)
- Fig.6.19. Dureri articulare (original)
- Fig.6.20. Pneumonie fibrinoasă monolaterală (original)
- Fig.6.21. Pneumonie fibrinoasă bilaterală (original)
- Fig.6.22. Aerosaculită spumoasă(original)
- Fig.6.23. Periartrită fibrinoasă (original)
- Fig.6.24. Ruptura tendonului gastrocnemian (original)
- Fig.6.25. Infiltrație macrofagică interstițială difuză în pulmon (HEA X 60)
- Fig.7.1. Vaccinare oculoconjunctivală
- Fig. 7.2. Vaccinare în apa de băut
- Fig. 7.3. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT
- Fig. 7.4. Curba de amplificare pentru probele analizate
- Fig. 7.5. Dinamica anticorpilor TRT după al doilea screening serologic
- Fig. 7.6. Repartizarea curcanilor în țarcuri țarcuri colective
- Fig. 7.7. Dinamica anticorpilor TRT după al treilea screening serologic
- Fig. 7.8. Cinetica anticorpilor anti-TRT la toate cele trei screeninguri efectuate
- Fig. 7.9 Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere
- Fig. 7.10. Dinamica anticorpilor ORT după primul screening serologic
- Fig. 7.11. Curba de amplificare pentru probele analizate (ORT)
- Fig. 7.12. Dinamica anticorpilor ORT după al doilea screening serologic
- Fig. 7.13. Dinamica anticorpilor ORT după al treilea screening serologic
- Fig. 7.14. Cinetica anticorpilor anti-ORT la toate cele trei screeninguri efectuate
- Fig. 7.15. Analiză comparativă dintre cinetica anticorpilor ORT și TRT
- Fig.7.16. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 1) la ferma Cărpiniș

Cercetări privind metodologia de diagnostic, profilaxie și combatere în unele boli respiratorii la curci crescute în sistem intensiv

Fig.7.17. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 2) la ferma Cărpiniș

Fig.7.18. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 3) la ferma Cărpiniș

Fig. 7.19. Cinetica anticorpilor anti-TRT la toate cele trei screeninguri efectuate la ferma Cărpiniș

Fig. 7.20. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la ferma Cărpiniș

Fig. 7.21. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la ferma Cărpiniș

Fig. 7.22. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la ferma Cărpiniș

Fig. 7.23. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la ferma Cărpiniș

Fig. 7.24. Cinetica anticorpilor anti-ORT la toate cele trei screeninguri efectuate la ferma Cărpiniș

Fig.7.25. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 1) la Ferma 6

Fig.7.26. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 2) la Ferma 6

Fig.7.27. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT (screening 3) la Ferma 6

Fig. 7.28. Cinetica anticorpilor anti-TRT la toate cele trei screeninguri efectuate la Ferma 6

Fig. 7.29. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Ferma 6

Fig. 7.30. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 6

Fig. 7.31. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Ferma 6

Fig. 7.32. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Ferma 6

Fig. 7.33. Cinetica anticorpilor anti-ORT la cele trei screeninguri efectuate la Ferma 6

Fig. 7.34. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT la ferma Romad Otis (screening 1)

Fig. 7.35. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT la ferma Romad Otis (screening 2)

Fig. 7.36. Dinamica răspunsului imun umoral pentru TRT la ferma Romad Otis (screening 3)

Fig. 7.37. Cinetica anticorpilor anti-TRT la toate cele trei screeninguri efectuate la Romad Otis

Fig. 7.38. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Romad Otis

Fig. 7.39. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Romad Otis

Fig. 7.40. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Romad Otis

Fig. 7.41. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Romad Otis

Fig. 7.42. Dinamica anticorpilor TRT (screening 1) la Ferma 1

Fig. 7.43. Dinamica anticorpilor TRT (screening 2) la Ferma 1

Fig. 7.45. Dinamica anticorpilor TRT (screening 3) la Ferma 1

Fig. 7.46. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Ferma 1

Fig. 7.47. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 1

Fig. 7.48. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Ferma 1

Fig. 7.49. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Ferma 1

Fig. 7.50. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 2 pe grupe de curcani

Fig. 7.51. Dinamica anticorpilor TRT (screening 2) la Ferma 2

Fig. 7.52. Dinamica anticorpilor TRT (screening 3) la Ferma 2

Fig. 7.53. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Ferma 2

Fig. 7.54. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 2

Fig. 7.55. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Ferma 2

Fig. 7.56. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Ferma 2

Fig. 7.57. Dinamica anticorpilor TRT (screening 1) la Ferma 5

Fig. 7.58. Dinamica anticorpilor TRT (screening 2) la Ferma 5

Fig. 7.59. Dinamica anticorpilor TRT (screening 3) la Ferma 5

Fig. 7.60. Evoluția mortalității comparativ cu ghidul de creștere la Ferma 5

Fig. 7.61. Dinamica anticorpilor ORT (screening 1) la Ferma 5

Fig. 7.62. Dinamica anticorpilor ORT (screening 2) la Ferma 5

Fig. 7.63. Dinamica anticorpilor ORT (screening 3) la Ferma 5

Fig. 7.64. Dinamica anticorpilor TRT (2 imunizări vs. 5 imunizări)

Fig. 7.65. Dinamica anticorpilor ORT (neimunizați vs. 5 imunizați)

Fig.8.1. Distribuția cheltuielilor în creșterea și îngrășarea curcanilor

Fig.8.2. Analiză comparativă a costurilor cu medicația în funcție de presiune microbiană

Fig.8.3. Analiză comparativă a mortalității înregistrate la curcani neimunizați și imunizați
contra TRT și ORT

Fig.8.4. Prevalența mortalității în funcție de statusul imun privind ORT