



Аспекти морфологічної діагностики хвороби Марека птиці

Aspects of morphological diagnosis of Marek's disease in birds

О. А. Ткаченко,
завідувач
кафедри, д-р вет.
наук, професор,
О. Г. Гаврилiна,
канд. вет. наук,
доцент,
Н. В. Алексєєва,
канд. вет. наук,
доцент,
ДДАЕУ, кафедра
епізоотології
та інфекційних
хвороб тварин

Неопластичні захворювання птиці, спричинені переважно вірусами, важко діагностуються та завдають значного економічного збитку. В умовах інтенсивного розвитку птахівництва в Україні деякі підприємства не завжди суворо дотримуються технологічних режимів, скорочують санітарні розриви, що призводить до накопичення патогенної вірусної та бактеріальної мікрофлори в навколишньому середовищі. Практика частої зміни схем вакцинацій, спектра біопрепаратів, необґрунтоване використання живих і поліштамних вакцин призводить до розширення спектру мікроорганізмів, що циркулюють у господарстві. У сучасних умо-

вах перебіг інфекційних хвороб продуктивної птиці відбувається переважно на тлі вакцинації, у субклінічній, латентній та асоційованій формах, що ускладнює діагностику, а в подальшому й профілактику та ліквідацію хвороб. На тлі імунодепресивного стану птиці відбувається нашарування секундарних інфекцій, що супроводжується значною летальністю, втратою продуктивності, а також знижує ефективність специфічних профілактичних заходів, майже до прориву імунітету вакцинованої птиці.

Хвороба Марека (нейролімфоматоз) – інфекційне захворювання курей, збудником якого є ДНК-геномний вірус родини *Herpesvirus* (*Gallid alphaherpes-*

virus – *GaHV*) роду *Mardivirus*. Через здатність *GaHV* уражувати нервові та епітеліальні клітини воно клінічно проявляється парезами та паралічами кінцівок, зміною кольору райдужної оболонки очей та утворенням у внутрішніх органах, скелетній мускулатурі та шкірі неопластичних пухлин. Крім курей, які вважаються найбільш чутливими, захворювання реєструється в індиків, качок, гусей, куріпок, фазанів, завдаючи значні економічні збитки птахівничим господарствам будь-якої форми власності.

У разі занесення збудника хвороби Марека в раніше благополучне господарство захворювання швидко поширюється серед сприйнятливого поголів'я птиці



аерогенним шляхом. Тяжкість інфекційного процесу залежить від віку, статеві належності, генетичної конституції, стану пасивного імунітету в сприйнятливої птиці, способу зараження та вірулентності штаму збудника, що спричинив захворювання.

Безумовно, благополуччя підприємств щодо інфекційних хвороб залежить від своєчасного якісного проведення лабораторних досліджень. Хворобу Марека діагностують на підставі епізоотологічних даних, клінічних ознак, результатів патолого-анатомічного розтину та підтверджують гістологічними, цитологічними, вірусологічними, серологічними дослідженнями. При цьому необхідно виключити лімфоїдний лейкоз, хворобу Ньюкасла, грип птиці, інфекційний енцефаломієліт, авітамінози й токсикози.

Особливості патотипічної та сероваріантної структури збудника значно ускладнюють діагностику та заходи профілактики хвороби Марека. Серед комплексу діагностичних методів морфологічні є важливим і легкодоступним діагностичним прийомом. У зв'язку з відсутністю доступних методів прижиттєвого розпізнавання хвороб лейкозно-саркоматозної групи та схожих до них патологій у птиці класичні та сучасні морфологічні методи діагностики мають першочергове значення. Розтин загиблої птиці, так само як і післязайний огляд вибрактованих особин, є особливо цінним діагностичним методом в умовах спеціалізованих птахівницьких господарств.

Патологічна морфологія як метод дослідження у ветеринарії посідає особливе місце. По-перше, тільки патоморфологія встановлює розвиток загальнопатологічних процесів (дистрофії, запален-



Рис. 1. Пухлиноподібні ураження селезінки



Рис. 2. Пухлиноподібні ураження серця



Рис. 3. Численні лімфоми в паренхімі печінки



Рис. 4. Пухлинноподібні ураження шлунка

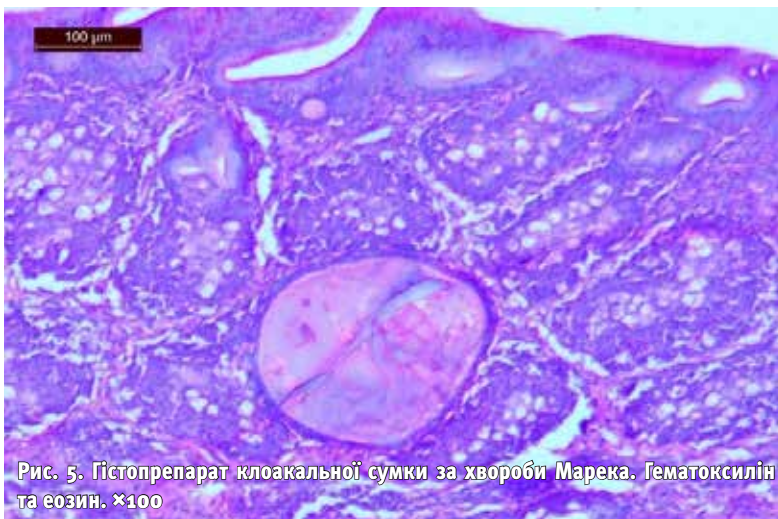


Рис. 5. Гістопрепарат клоакальної сумки за хвороби Марека. Гематоксилін та еозин. $\times 100$

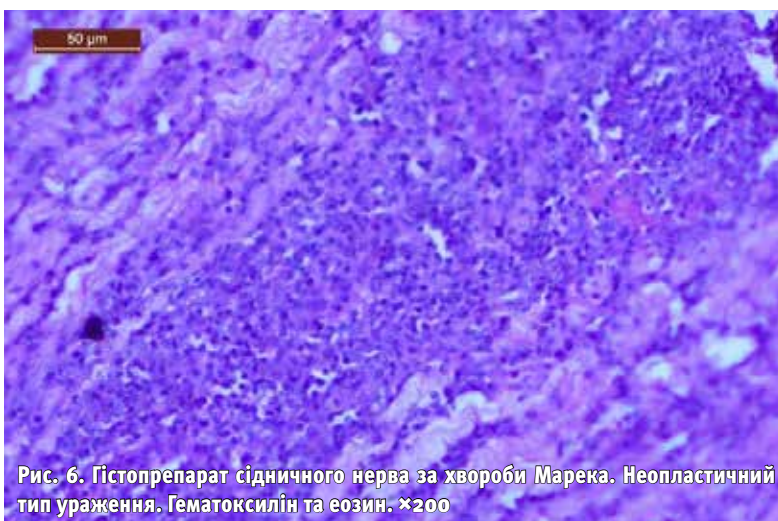


Рис. 6. Гістопрепарат сідничного нерва за хвороби Марека. Неопластичний тип ураження. Гематоксилін та еозин. $\times 200$

ня, розлади кровообігу, процеси регенерації, розвиток пухлин, пороки тощо). По-друге, патологоанатомічне дослідження трупів або внутрішніх органів – це початковий етап у ланцюзі подальших досліджень (бактеріологічних, вірусологічних, біохімічних, токсикологічних тощо). По-третє, патологоанатомічний розтин трупів птиці є одним з найбільш інформативних методів діагностики хвороб. У разі багатьох захворювань птиці можна спостерігати аналогічні клінічні ознаки або захворювання може виявлятися лише симптомами загального нездужання. Аналізуючи посмертні зміни в різних органах і тканинах, можна більш упевнено судити про патологічні процеси, які розвивалися за життя птиці.

Патоморфологічні зміни залежать від форми прояву хвороби в загиблій птиці. У разі **класичної форми** виявляються значні (у 5–10 разів) потовщення периферичних нервів, особливо плечового та попереково-крижового сплетінь. Разом з ураженням очей спостерігається гіперемія судин, набухання та осередкове розм'якшення тканин головного та спинного мозку. У 20–30% випадків відзначаються пухлини в яєчниках та сім'яниках, які набувають горбистої поверхні та щільної консистенції. У разі ураження головного й спинного мозку спостерігаються типові для негнійного енцефаліту та мієліту зміни.

За **підгострої форми** макроскопічних змін у периферичних нервах зазвичай немає, проте виявляється значна кількість пухлин у внутрішніх органах (рис. 1–4) – селезінці, печінці, нирках, серці, легенях, шлунку, підшлунковій залозі, кишках, а також у скелетних м'язах та шкірі. В епітелії перових фолікулів, нирок, підшлункової



залози виявляються внутрішньоядерні та цитоплазматичні вclusions. За хвороби Марека зберігається здатність диференціації в клітин лімфоїдного ряду, що є її принциповою відмінною ознакою від лімфоїдного лейкозу. Відзначається інфільтрація нервових сплетінь і стовбурів, а також уражених органів лімфоїдними клітинами різної зрілості, псевдоеозінофілами, плазматичними клітинами й гістіоцитами.

За *хронічного перебігу* класичної форми хвороби відзначають атрофічні зміни мускулатури уражених кінцівок, міокарда; катаральне запалення шлунково-кишкового тракту. Найбільш характерна ознака за цієї форми перебігу захворювання – ураження очей. У стані фізіологічної норми райдужна оболонка в курчат сіро-блакитна, а до 4 міс. вона набуває помаранчевого забарвлення. За хвороби Марека райдужка стає сірою з ділянками жовто-коричневого, іноді зеленого кольору. Часто виявляють зрощення райдужної оболонки з кришталиком або рогівкою. Форма зіниці в такому разі змінюється. Закономірно спостерігається набряк зорового нерва.

На розтині трупів птиці, загиблій в результаті *гострої форми хвороби*, виявляють пухлини в статевих залозах, легенях, нирках, серці, печінці, залозистому шлунку, селезінці, рідше вражаються брижа, підшлункова залоза, кишечник, скелетна мускулатура, шкіра, фабрицієва сумка. Ураження нервів візуально виявляється вкрай рідко. Гістологічно пухлиноподібні розростання представлені поліморфними клітинами – лімфоїдними, плазматичними та гістіоцитами.

На кафедрі епізоотології та інфекційних хвороб тварин Дні-

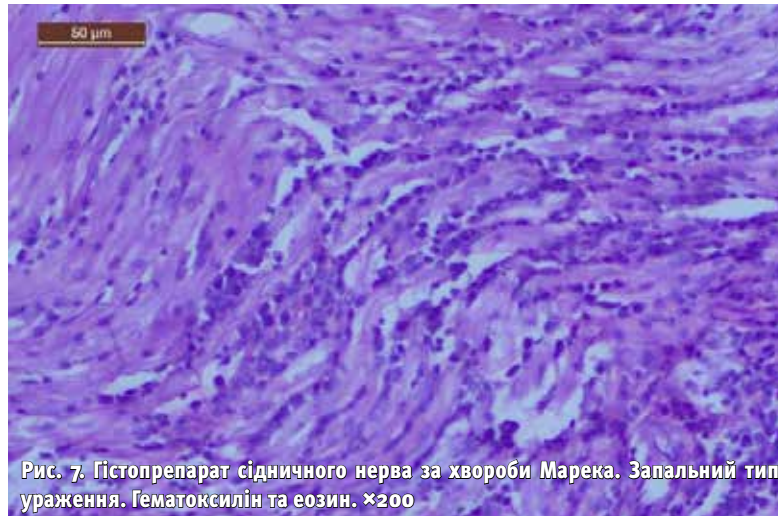


Рис. 7. Гістопрепарат сідничного нерва за хвороби Марека. Запальний тип ураження. Гематоксилін та еозин. ×200

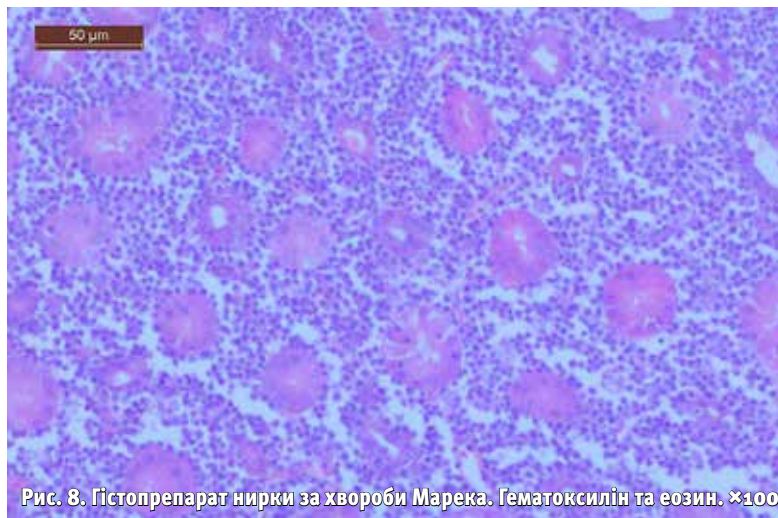


Рис. 8. Гістопрепарат нирки за хвороби Марека. Гематоксилін та еозин. ×100

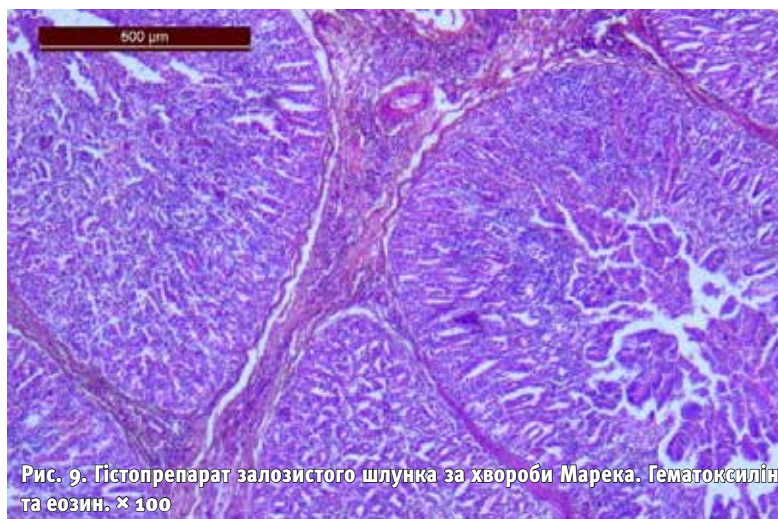


Рис. 9. Гістопрепарат залозистого шлунка за хвороби Марека. Гематоксилін та еозин. × 100

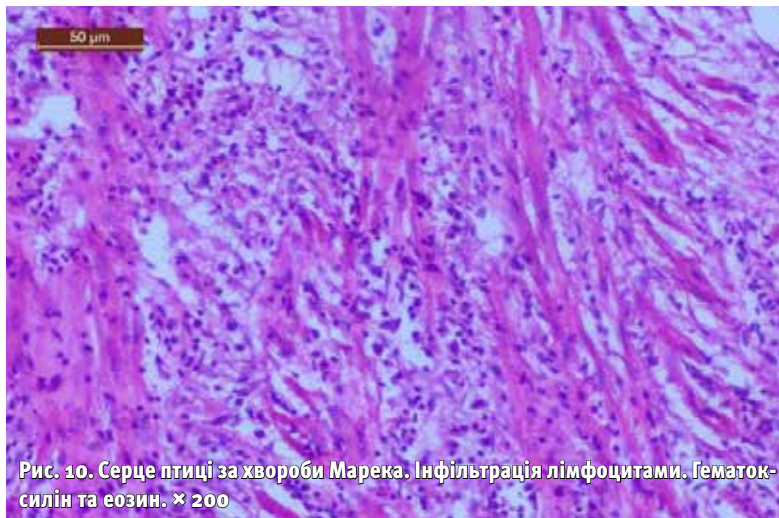


Рис. 10. Серце птиці за хвороби Марека. Інфільтрація лімфоцитами. Гематоксилін та еозин. × 200

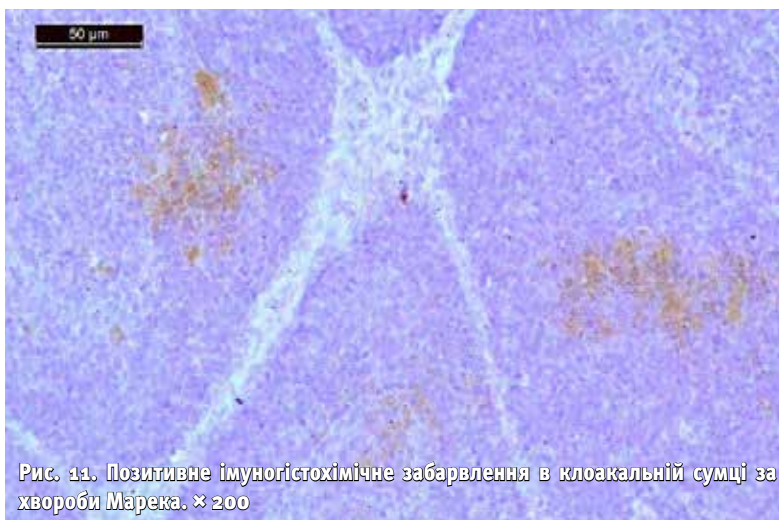


Рис. 11. Позитивне імуногістохімічне забарвлення в клоакальній сумці за хвороби Марека. × 200

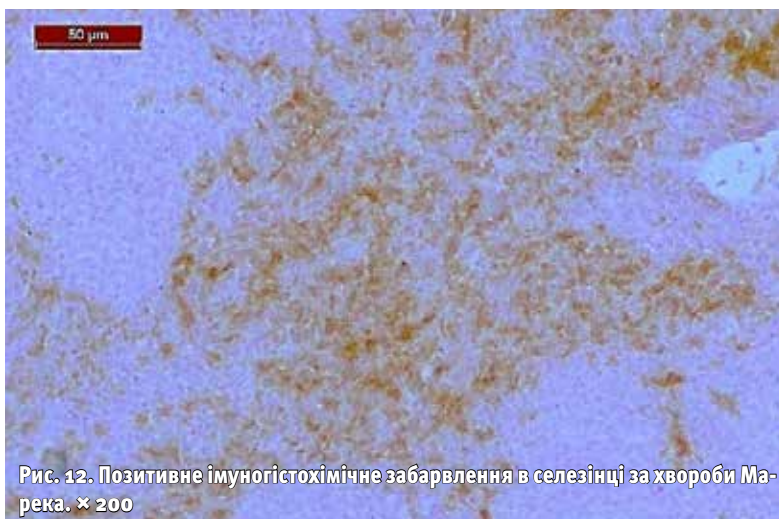


Рис. 12. Позитивне імуногістохімічне забарвлення в селезінці за хвороби Марека. × 200

провського державного аграрно-економічного університету проведено комплексні морфологічні дослідження внутрішніх органів хворої птиці. Під час гістологічного дослідження виявлено дистрофію та некроз паренхіми компактних органів, проліферацію й інфільтрацію лімфоїдними, гістіоцитарними та плазматичними клітинами периваскулярної сполучної тканини з поступовим витисненням паренхіми органів.

Залежно від ступеня диференціювання клітин лімфоми поділяють на:

- ◆ **лімфатичні** (до складу яких входять малі, середні та великі лімфоцити),
- ◆ **гістіоцитарно-плазматичні** (складаються з незрілих і зрілих гістіоцитів, ретикулярних і плазматичних клітин з поодинокими лімфоцитами та фібробластичними елементами);
- ◆ **змішано-клітинні** (складаються з лімфатичних, гістіоцитарних, плазматичних, ретикулярних, гранулоцитарних і фібробластичних клітин).

За нашими даними у 87% випадків діагностичного матеріалу в разі вісцеральної форми хвороби реєструються змішано-клітинні лімфоми. На ранніх стадіях хвороби зміни також знаходили в тимусі та клоакальній сумці.

Дуже специфічні зміни виявлено під час дослідження бурси Фабриціуса (рис. 5): делімфатизацію, різке зменшення кількості фолікулів і тотальне руйнування. Процес мав **5 основних гістоморфологічних типів прояву**:

- ◆ проста делімфатизація та різке спадання розмірів фолікулів;
- ◆ пухирчасте балонування клітин мозкової речовини фолікулів з утворенням структур типу «пташиних кладок»;



- ◆ кістозне руйнування фолікулів із формуванням дрібних і великих кіст;
- ◆ перетворення фолікулів на залозисті структури;
- ◆ змішаний тип змін фолікулів із наявністю різних видів уражень.

Слід зазначити, що процес делімфатизації не супроводжувався запальними та мікроциркуляторними розладами. Відбувалося різке зменшення складок клоакальної сумки, які іноді були повністю позбавлені фолікулів. Орган втрачав свої основні функціонально-морфологічні структури. Через зменшення об'єму органу поверхневий епітелій складок утворював глибокі западини. Між делімфатизованими, різко зменшеними фолікулами розросталася сполучна тканина.

Вірус хвороби Марека має виражену нейротропну дію. У головно-

му та спинному мозку реестрували гіперемію, дистрофію нервових клітин, вогнищеву проліферацію глії, виражену лімфоїдну інфільтрацію периваскулярної тканини.

За результатами гістологічних досліджень виділили два типи ураження периферичних нервів. Неопластичний тип характеризувався інтенсивною проліферацією лімфобластних клітин з ознаками демієлінізації та проліферації швановських клітин (рис. 6). Гістологічні зміни в периферичних нервах за запального типу ураження характеризувалися інфільтрацією інтраневральної сполучної тканини лімфоїдно-гістіоцитарними клітинами та полібластами (рис. 7). Проте слід зауважити, що в одній птиці в різних нервах патогістологічні зміни можуть варіювати. У 15 % курчат, що загинули від хвороби Марека,

інфільтрація нервових стовбурів була незначна або зовсім відсутня. Лімфоїдні інфільтрати виявлені також в очних нервах, м'язах та оболонках очей.

Під час подальшого розвитку хвороби в паренхіматозних органах встановили посилення інфільтративних процесів лімфоїдними, гістіоцитарними і плазматичними клітинами. Дифузна інфільтрація паренхіми лімфоїдними клітинами призводила до втрати нормальної форми паренхіматозних органів, поверхня яких ставала зернистою на вигляд. У печінці та нирках виявлено дифузну та вогнищеву проліферацію та інфільтрацію лімфобластними клітинами паренхіми органів (рис. 8). Стінка залозистого шлунка потовщена за рахунок лімфоїдної інфільтрації клітинами пухлини поліморфного складу (лімфоцити, лімфобласти,





плазматичні клітини, гістіоцити) (рис. 9).

У серцевому та скелетних м'язах виявлено скупчення клітин пухлини між волокнами та на місці зруйнованих м'язових волокон (рис. 10). Міокард на розрізі мав більш блідий колір внаслідок дифузної інфільтрації. Проте іноді реєстрували поодинокі або множинні вузликіві ураження під епікардом. У селезінці фіксували значне збільшення органу. На гістологічному рівні встановили дифузну інфільтрацію паренхіми гістіоцитами, лімфоцитами та плазматичними клітинами. Мікроструктура органу порушена. Лімфатичні вузлики збільшені, зливаються у великі ділянки. Місцями диференціація морфологічних структур селезінки повністю втрачена.

Шкірні ураження ми реєстрували значно рідше, вони здебільшо-

го мали запальний характер, іноді лімфоматозний, та локалізувалися навколо інфікованих пір'яних фолікулів, формуючи компактні скупчення лімфоцитів, плазматичних клітин і гістіоцитів.

Сучасним методом діагностики інфекційних хвороб є імуногістохімічний аналіз. Це метод виявлення точної локалізації того чи іншого клітинного або тканинного компонента (антигена) завдяки зв'язуванню його з міченими антитілами. Albert Coons в 1941 р. вперше отримав мічені флюоресцеїном антитіла й застосував їх у діагностичних цілях. Проте велика складність отримання антитіл та їх візуалізації з низькою відтворюваністю результатів обмежила поширення методу. У 1970 р. Ludwig Sternberger винайшов пероксидаза-антипероксидазний метод, а в 1975 р. Georges Köhler

і Cesar Milstein уперше добилися злиття короткоживучих лімфоцитів, які продукують антитіла, та постійно зростаючих клітин плазматоцити й отримали теоретично «безсмертні», культивовані клони гібридами, що дало можливість отримувати різноманітні моноклональні антитіла в більших кількостях (у 1984 р автори були удостоєні Нобелівської премії «за відкриття принципу синтезу моноклональних антитіл»). У 1990 р. було встановлено можливість пошуку нереактивних антигенів у тканинах, фіксованих формаліном і ущільнених у парафін, шляхом їх нагрівання в буферних розчинах. Це розширило можливості методу й підвищило його чутливість.

Перспективність розвитку імуногістохімічних досліджень полягає в тому, що вони поєднують у собі можливості сучасної гістоло-



гії та імуногістохімічного аналізу на клітинному та тканинному рівнях і дають можливість проводити діагностику у фіксованому матеріалі навіть після його тривалого зберігання. За своїм принципом методи імуногістохімії ґрунтуються на імуноферментному виявленні антигенів за допомогою специфічних або антивидових сироваток, мічених флюорохромами або ферментами, у зрізах тканин, мазках, моношарі клітин тощо.

Проведений імуногістохімічний аналіз за хвороби Марека свідчить, що за візуалізації позитивної реакції на зрізах тканин реєструються ділянки з контрастним коричневим імунозабарвленням. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна кількості антигенів вірусу в межах розведення відповідних специфічних антитіл. Якщо імунні комплекси не сформувались (негативний результат), зрізи забарвлювалися гематоксилином

у світло-синій колір без наявності контрастного коричневого забарвлення.

За мікроскопії гістопрепаратів забарвлені імунні комплекси виявлялися переважно в протоплазмі й частково в плазматичній мембрані клітин. Антиген у гістологічних препаратах органів птахів дослідної групи після імуногістохімічного забарвлення мав вигляд локальних або дифузних скупчень коричневого кольору округлої та глибокої форми.

Антиген накопичувався в гліальних клітинах сірої речовини головного мозку. Імунне забарвлення реєструвалося в усіх шарах кори головного мозку та проявлялося коричневим забарвленням тіла й відростків нейронів. За невральної форми хвороби рівень експресії позитивно забарвлених клітин сягав майже III балів.

Під час дослідження імуногістохімічних змін у клоакальній

сумці було встановлено, що антиген у вигляді дрібних глибок накопичувався в усіх зонах лімфоїдного осередку бурси. Найбільш виражене імунне забарвлення реєструвалося у зовнішньому кортикальному шарі, де відбувається дозрівання й проліферація В-лімфоцитів (рис. 11).

Позитивне імунозабарвлення реєструвалося у протоплазмі лімфоцитів білої та червоної пульпи селезінки (рис. 12). У нирках епітеліальні клітини проксимальних звивистих каналців збільшені, межі між клітинами нечіткі, цитоплазма клітин тьмяна зі слабо помітною зернистістю, окремі ядра клітин перебувають у стані розпаду. Просвіт дистальних звивистих каналців та збиральних трубочок каналців збільшений. Антиген накопичувався в епітелії каналців нирок і в капсулах клубочків.

Отже, необхідно зауважити, що найважливішу роль у заходах з попередження розповсюдження хвороби відіграє її рання діагностика. Для підвищення ефективності діагностики хвороби Марека птиці в господарствах необхідно використовувати комплекс лабораторних досліджень, які обов'язково повинні містити класичні та сучасні патоморфологічні методи. Імуногістохімічні методи виявлення антигенів хвороби Марека птиці надають вичерпну інформацію про імуногенні особливості вірусу, тропність і кількісний вміст в органах та тканинах.

Проте необхідно пам'ятати, що через відсутність ефективних терапевтичних засобів найважливіше місце в збереженні поголів'я птиці від зараження збудником хвороби Марека (GaHV) посідає своєчасна вакцинація.

Представлені фото з особистого архіву О. Г. Гавриліної

