



УДК 619:119.99:636.5

Патогістологічна характеристика імунних органів курей–бройлерів при спонтанному орнітобактеріозі

Г.І. Бліщ, Г.І. Коцюмбас
galyna.blishch@gmail.com

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

У статті представлені результати патологоанатомічних, патогістологічних та гістохімічних досліджень органів імунної системи (клоакальна сумка, тимус, селезінка) за спонтанного орнітобактеріозу курей–бройлерів. Отримані результати досліджень дозволили на морфологічному рівні визначити, що за орнітобактеріозу відбувається редукція імунних структур, декомпенсація різних клітинних систем, що беруть участь в імунній відповіді, а це вказує на розвиток імуносупресивного стану.

Аналіз проведених бактеріологічних і серологічних досліджень патологічного матеріалу, відібраного від спонтанно хворих курей з птахофабрик Львівщини, дозволив констатувати захворювання, як орнітобактеріоз. Під час патологоанатомічного розтину 30 курей–бройлерів 28 денного віку, було відібрано фрагменти тимуса, селезінки і клоакальної сумки, які фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну та рідині Карнуа. Зрізи виготовляли на мікромомі МС–2, фарбували гематоксилін–еозином та за методом Мак–Мануса.

За гістологічного дослідження імунних органів курей–бройлерів виявлено: у клоакальній сумці атрофію часточок (лімфофолікулів), що виразилось різким звуженням кіркової зони, внаслідок зменшення кількості В–лімфоцитів, плазматичних клітин та потовщення міжчасточкової сполучної тканини; у тимусі – гіперемію, у кірковій зоні нецільне заповнення малими лімфоцитами та зростання в ній незрілих форм, а в мозковій речовині – значне збільшені кількості тілець Гассала; у селезінці – атрофію лімфоїдної тканини за рахунок різкого зменшення кількості Т–лімфоцитів у периартеріальних лімфоїдних муфтах, спустошення В–залежних зон, а у червоній пульпі – зменшення кількості мікро–та макрофагів. Імуносупресивні зміни в селезінці супроводжувались порушенням проникності судин, просяканням PAS–позитивними і піронінофільними білками їх стінок та ретикулярної основи периліпсоїдних лімфоїдних муфт і внутрішньосудинним згортанням крові, що морфологічно проявлялось утворенням фібрилярних структур та тромбів у просвіті судин.

Ключові слова: орнітобактеріоз, клоакальна сумка, тимус, селезінка, кури–бройлери, *Ornithobacterium rhinotracheale*, гістологія.

Патогистологическая характеристика иммунных органов у кур–бройлеров при спонтанном орнитобактериозе

Г.И. Блищ, Г.И. Коцюмбас
galyna.blishch@gmail.com

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого, ул. Пекарская, 50, г. Львов, 79010, Украина

В статье представлены результаты патологоанатомических, патогистологических и гистохимических исследований органов иммунной системы (клоакальная сумка, тимус, селезенка) при спонтанном орнитобактериозе кур–бройлеров. Полученные результаты исследований позволили на морфологическом уровне определить, что при орнитобактериозе происхо-

Citation:

Blishch G.I., Kotsyumbas G.I. (2016). Histopathological characteristics of the broiler's immune system organs in case of ornithobacterium infection. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 18, 3(71), 152–157.

дит редукция иммунных структур, декомпенсация различных клеточных систем, принимающих участие в иммунном ответе, а это указывает на развитие иммуносупрессивного состояния.

Анализ проведенных бактериологических и серологических исследований патологического материала от спонтанно больных кур с птицефабрик Львовщины, позволил констатировать заболевание, как орнитобактериоз. При патологоанатомическом вскрытии 30 кур-бройлеров 28 суточного возраста, были отобраны фрагменты тимуса, клоакальной сумки и селезенки, которые фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и жидкости Карнуа. Срезы изготавливали на микротоме МС-2, окрашивали гематоксилин-эозином, по методу Мак-Мануса.

При гистологическом исследовании иммунных органов кур-бройлеров установлено: в клоакальной сумке – атрофию частиц (лимфофоликулов), что выразилось резким уменьшением корковой зоны, вследствие уменьшения количества В-лимфоцитов, плазматических клеток и утолщение междольковой соединительной ткани; в тимусе – гиперемию, в корковой зоне неплотное заполнение малыми лимфоцитами и возрастание в ней незрелых форм, а в мозговом веществе – значительное увеличение количества телец Гассалья; в селезенке – атрофию лимфоидной ткани, что выразилось резким уменьшением количества Т-лимфоцитов в периартериальных лимфоидных муфтах, опустошением В-зависимых зон, а в красной пульпе – уменьшение количества микро- и макрофагов. Иммуносупрессивные изменения в селезенке сопровождалось нарушением проницаемости сосудов, пропитыванием PAS-положительными и пиронинофильными белками их стенок и ретикулярной основы периллипсоидных лимфоидных муфт, внутрисосудистым свертыванием крови, что морфологически отразилось образованием фибриллярных структур и тромбов в их просвете.

Ключевые слова: орнитобактериоз, клоакальна сумка, тимус, селезенка, куры-бройлери, *Ornithobacterium rhinotracheale*, гистология.

Histopathological characteristics of the broiler's immune system organs in case of ornithobacterium infection

G.I. Blishch, G.I. Kotsyumbas
galyna.blishch@gmail.com

Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S.Z. Gzhytskyi,
Pekarska Str., 50, Lviv, 79010, Ukraine

The article presents the results of pathological, histopathological and histochemical studies of the immune system organs of broilers (in particular, the bursa of Fabricius, thymus and spleen) in conditions of ornithobacterium infection. The obtained results were conducted on the morphological level which helped to identify the fact that in the case of ornithobacterium infection the atrophy of immune structures is taking place; decompensation of different cells involved in the immune response indicates the development of immunosuppressive conditions.

The analysis of bacteriological and serological studies of pathological material taken from sick chickens at the poultry farms in Lviv region, Ukraine, led to identifying the disease as ornithobacterium infection. During postmortem autopsy of 30 broilers of 28 days of age, the fragments of the thymus, spleen and the bursa of Fabricius were selected, which were then put into the 10% formaldehyde solution and Carnoy's solution. Dissections were conducted via the MC-2 microtome and stained with hematoxylin-eosin using McManus methods.

Histological research of the immune organs of broilers led to the following findings: an atrophy of lymphoid follicles located in the bursa of Fabricius which resulted in a sharp narrowing of the cortical area due to the reduced number of B-lymphocytes; plasma cells and thickening of the interlobular connective tissue; congestion in the thymus, loose filling of the cortical area with the small lymphocytes and an increase of the immature forms in it as well as a significant increase in the number of Hassall's corpuscles in the cerebrospinal fluid; atrophy of the lymphoid tissue in spleen due to a sharp decrease in the number of T-lymphocytes in the periarterial lymphoid couplings, destruction of B dependent areas, and reduced number of micro- and macrophages in the red pulp. Immunosuppressive changes in the spleen were accompanied by the violation of vascular permeability, permeation of PAS positive and pyroninophilic proteins into the vessels and reticular foundations of the periellipsoid and lymphoid couplings and intravascular coagulation which manifested itself on the morphological level by forming fibril structures and blood clots in the lumen of blood vessels.

Key words: Bursa of Fabricius, thymus, spleen, Broilers, *Ornithobacterium rhinotracheale*, histology.

Вступ

В умовах інтенсивного ведення птахівництва основною метою є отримання максимальної кількості тваринницької продукції, яка б мала високу якість. На це, крім генетичного потенціалу, впливає ряд факторів, які пов'язані з умовами утримання, годівлі та профілактики птиці від інфекційних захворювань (Widley, 2013). Актуальною проблемою залишається вивчення стану імунної системи курей в умовах їх інтенсивної експлуатації, навантаження вакцинами, та за умов виникнення різноманітних захворювань. Іму-

нодефіцити курей набувають, останнім часом, великого значення у промисловому птахівництві.

Відомо, що основною функцією імунної системи є захист організму проти екзо- та ендогенних чинників. У птиці тимус є одним з головних лімфоїдних органів, який контролює всі імунні реакції і є місцем продукування Т-клітин, які в подальшому відповідають за клітинний імунітет. У клоакальній сумці відбувається розвиток В-лімфоцитів, які потім потрапляють до периферійних лімфоїдних органів – селезінки, цекальної тонзили, тощо (Vrakin and Sidorova, 1984; Dmitrieva, 2003; Kolych, 2006).

На сьогодні, серед інфекційних захворювань промислової птиці у більшості країн світу і, в тому числі в Україні, все частіше стали реєструвати орнітобактеріоз. Орнітобактеріоз – висококонтагіозне захворювання птиці, яке характеризується повільним, частіше субклінічним перебігом, проявами ураження інфраорбітальних синусів, повітроносних мішків, серозних покривів та розвитком одно-, рідше двобічної пневмонії (Glisson, 1998). У доступній науковій літературі описані поодинокі і часто суперечливі повідомлення, які були б присвячені дослідженню гісто-структурних змін в органах і системах за даного захворювання, а зокрема морфофункціональному стану імунної системи курей за орнітобактеріозу.

Метою нашої роботи було вивчити гісто-структурні та деякі гістохімічні зміни в органах імуногенезу (клоакальній сумці, тимусі, селезінці) за спонтанного орнітобактеріозу курей-бройлерів.

Матеріал і методи досліджень

Проведені бактеріологічні та серологічні дослідження патологічного матеріалу, відібраного від спонтанно хворих курей з птахофабрик Львівщини, дозволили констатувати захворювання, як орнітобактеріоз. Під час патологоанатомічного розтину 30 курей-бройлерів 28 денного віку, було відібрано фрагменти тимуса, клоакальної сумки і селезінки. Матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну та фіксаторі Карнуа, зневоднювали в етанолі зростаючої міцності, ущільнювали і заливали в парафін. Зрізи виготовляли на мікротомі MC-2 товщиною 5–7 мк, фарбували гематоксилін-еозином, за методами: Браше, Мак-Мануса (Pirs, 1962; Merkulov, 1969). Аналіз гістологічних зрізів проводили методом світлової мікроскопії з використанням мікроскопа Leica DM-2500 (Switzerland) та фотокамери Leica DFC 450C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4.

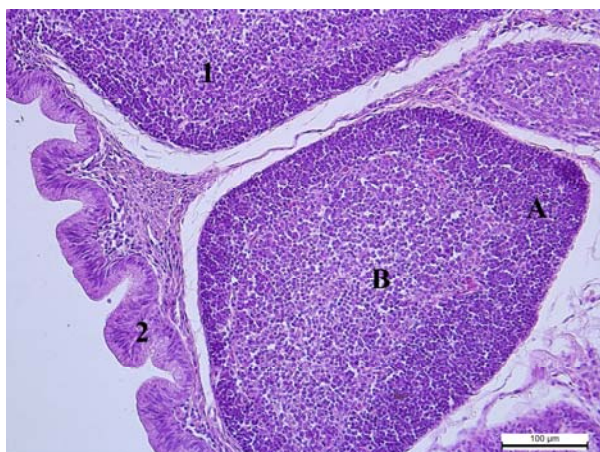


Рис. 1. Клоакальна сумка клінічно здорових курей-бройлерів. 1 – часточка (А – кіркова, Б – мозкова речовина), 2 – поверхневій епітелій. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

Результати та їх обговорення

Клоакальна сумка курей є мішкоподібним органом округлої форми, сіро-білого кольору, яка утворена слизовою, м'язовою та серозною оболонками. На розрізі органу проглядались чітко сформовані складки, які виступали у просвіт сумки. За гістологічного дослідження повздовжніх складок клоакальної сумки клінічно здорових курей-бройлерів відзначали, що слизова оболонка вкрита епітелієм, під яким розміщувалась власна пластинка та підслизова основа. М'язова пластинка в ній була відсутня. Серед клітин поверхневого епітелію траплялись циліндричні, камбіальні та келихоподібні клітини, найбільш численними серед них були циліндричні клітини. У кожній складці слизової оболонки залягали 2 ряди часточок (лімфоепітеліальні фолікули). У ділянках поверхневого епітелію, який розташований над часточками (лімфофолікулами), базальна мембрана відсутня, що сприяє прямому зв'язку із кірковою речовиною. Клітини цього епітелію прийнято називати епітелієм ділянки контакту, або фолікуло-асоційованим епітелієм. У чітко оконтурованих часточках добре проглядалась темніше забарвлена периферична (кіркова зона) та світліше забарвлена – центральна (мозкова зона) (рис. 1). У кірковій зоні переважали малі та середні лімфоцити, незрілі клітини та поодинокі плазмодити. У мозковій зоні розміщувались великі та середні лімфоцити, плазмодити та макрофаги (рис. 3).

За гістологічного дослідження клоакальної сумки спонтанно хворих орнітобактеріозом курей-бройлерів встановили, що порівняно з контрольною птицею, відбувалось значне зменшення в об'ємі лімфофолікулів, тобто їх атрофія. Міжчасточкова сполучна тканина потовщена, відзначали помірну активність ретикуло-гістіоцитарних елементів. Будова лімфоепітеліальних фолікулів змінена, межа між кірковою та мозковою зонами нечітка, погано проглядається, розмита (рис. 2).

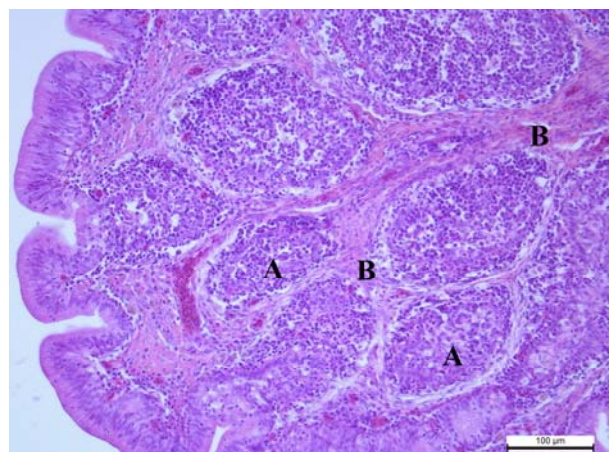


Рис. 2. Клоакальна сумка спонтанно хворих орнітобактеріозом курей-бройлерів. Часточки атрофовані (А), міжчасточкова сполучна тканина потовщена (В). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

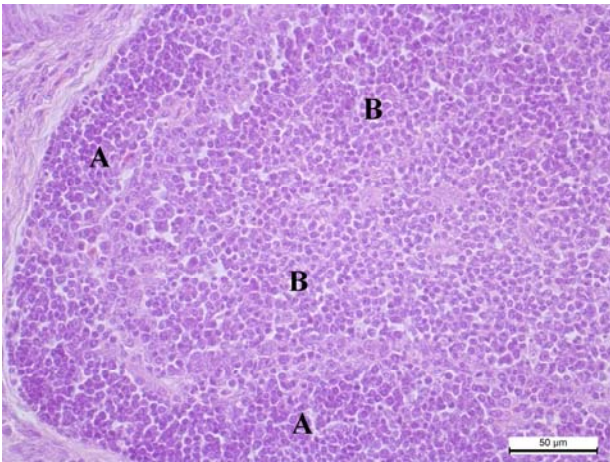


Рис. 3. Лімфофолікул клоакальної сумки клінічно здорових курей–бройлерів. Чітко виражена кіркова (А) і мозкова зони (В). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

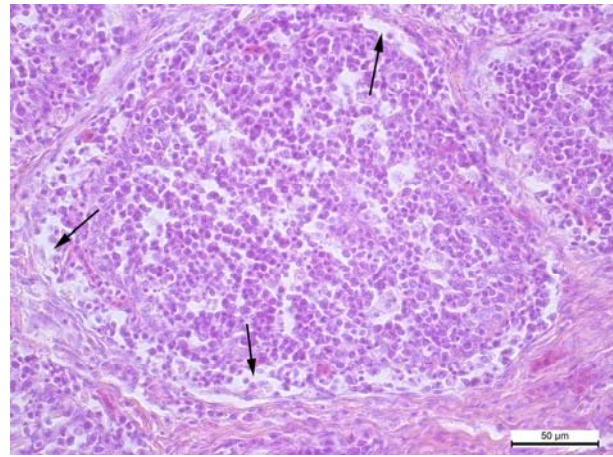


Рис. 4. Лімфофолікул клоакальної сумки спонтанно хворих орнітобактеріозом курей–бройлерів. Спущення кіркової зони (показано стрілками). Межа між кірковою та мозковою зонами стерта. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

У більшості лімфофолікулів периферична кіркова зона витончена або відсутня. У ретикулярній тканині кіркової речовини відзначали різке зниження кількості клітинних елементів, де серед ретикулярних клітин проглядалися поодинокі, невеликі скупчення лімфоцитів та значні просвіти, що зумовлено інтенсивним зменшенням кількості В–лімфоцитів і плазматичних клітин. Ретикулярна тканина мозкової зони також просвітлена з вираженими пустотами, внаслідок значного зменшення кількості лімфоцитів (рис. 4). Між лімфофолікулами відзначали гіперемію та, де–не–де, крововиливи у пухку сполучну тканину. Епітелій клоакальної сумки високий, рівний, цитоплазма однорідно забарвлена.

Відомо, що кіркова і мозкова зони часточок виконують різні, але взаємозв'язані функції. Кіркова зона є постачальником клітин, а в мозковій зоні проходять складні процеси їх диференціювання. Різке зменшення об'єму кіркової зони вказує на послаблення генеративної функції клоакальної сумки, а порушення утворення нових клітин призводить до виснаження органу, особливо під час формування імунної відповіді.

За гістологічного дослідження тимуса курей контрольної групи відзначали чітко сформовану капсулу із волокнистої сполучної тканини від якої відходять трабекули, що ділять орган на часточки. У часточках межа між кірковою та мозковою речовинами добре виражена. Ці дві зони розділені кортико–медулярними судинами. У клінічно здорових курей–бройлерів кіркова зона переважала над мозковою і набувала темнішого забарвлення, оскільки була густо заповнена малими лімфоцитами, між якими розміщувались епітеліальні клітини. Мозкова зона, порівняно менша, світліша, де між епітеліоцитами дещо вільніше розташовувались великі та зрілі Т–лімфоцити, макрофаги та дендритні клітини (рис. 5). У полі зору траплялись поодинокі оксифільні, округлої форми, дещо гомогенні тільця Гассаля (рис. 7). Епітеліальні клітини мозкової зони тимуса знаходились на різних стадіях дозрівання і апоптозу, що свідчило про нор-

мальний фізіологічний процес і вказувало на активізацію процесів, що відбуваються в імунній системі.

За гістологічного дослідження тимуса спонтанно хворих курей–бройлерів відзначали зменшення часточок в об'ємі, але розподіл часточок на кіркову та мозкову зони зберігався. При цьому слід зазначити, що кровоносні судини мозкової та кіркової зони сильно розширені, переповнені кров'ю, а в капілярах – стази (рис. 6). Кіркова зона, порівняно з контролем, нещільно заповнена малими лімфоцитами, збільшувалась кількість незрілих форм, тому дана зона набувала порівняно світлішого забарвлення. Периваскулярно виявляли поодинокі плазматичні клітини. У мозковій речовині відзначали значну кількість добре структурованих та чітко окреслених тілець Гассаля (рис. 8).

За мікроскопічного дослідження селезінки клінічно здорових курей–бройлерів добре проглядалася тонка капсула селезінки, утворена мезотелієм, сполучною тканиною та прошарками гладких м'язів, проте трабекули в структурі селезінки не візуалізувались. Основу паренхіми селезінки складала ретикулярна тканина в якій розміщувалась біла та червона пульпи. У білій пульпі проглядалися периартеріальні лімфоїдні муфти з центральною артерією (рис. 9). Периеліпсоїдні лімфоїдні муфти містили слабодиференційовані форми клітин, цитоплазма яких мала слабо виражену піронінофільність. Поміж білою пульпою проглядалась червона пульпа, в якій розміщувались венозні синуси і анастомозуючі тяжі, утворені ретикулярними клітинами, які заповнені макрофагами, лімфоцитами та плазматичними клітинами.

За мікроскопічного дослідження гістологічних препаратів селезінки спонтанно хворих курей–бройлерів відзначали помірний набряк і розволокнення капсули, виражену гіперемію судин. Судини і венозні синуси розширенні, переповнені еритроцитами з густо переплетеними оксифільними філаментами фібрину, що вказувало на посилену активацію фібриноген–протромбінової ланки та розвиток синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові.

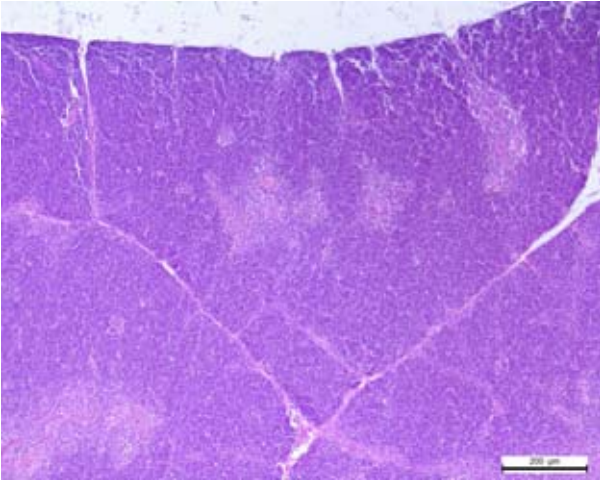


Рис. 5. Тимус клінічно здорових курей-бройлерів. Чітко структурована кіркова і мозкова речовина часточок. Гематоксилін-еозин. Ок.10, об. 10

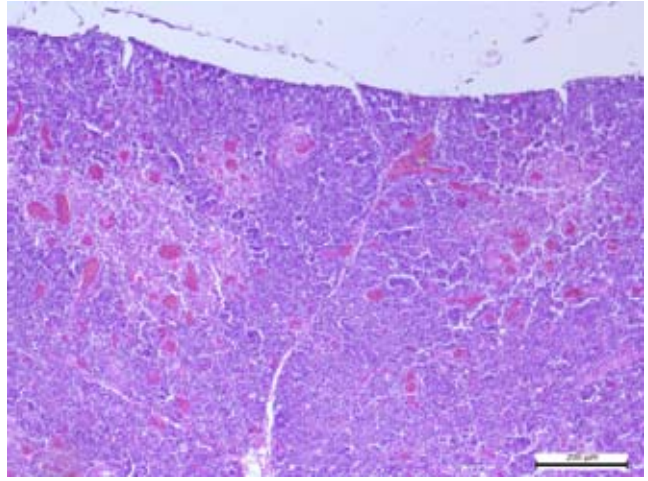


Рис. 6. Тимус спонтанно хворих орнітобактеріозом курей-бройлерів. Гіперемія. Гематоксилін-еозин. Ок. 10, об. 10

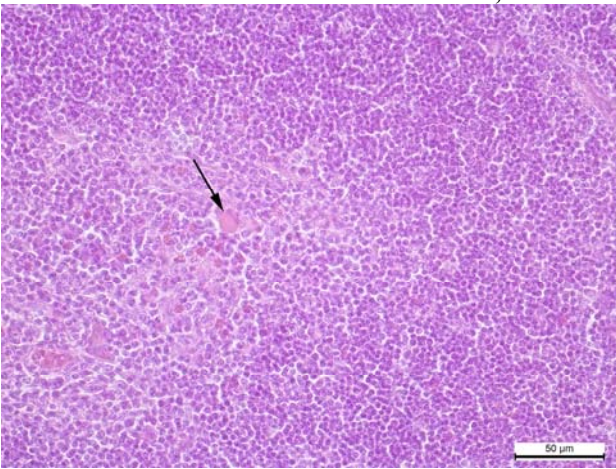


Рис. 7. Тимус клінічно здорових курей-бройлерів. Поодинокі тіลця Гассалья (показано стрілкою). Гематоксилін-еозин. Ок. 10, об. 40

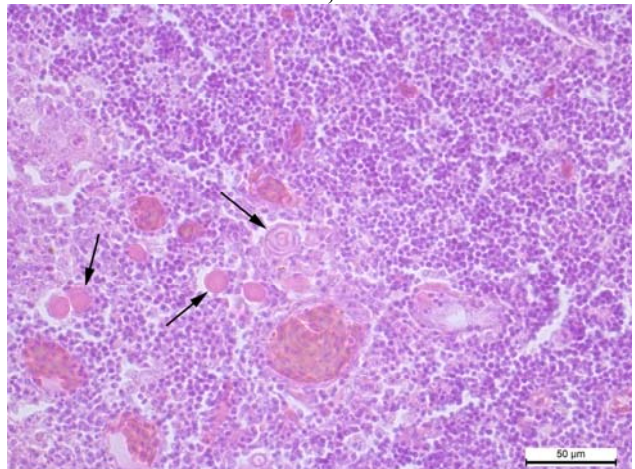


Рис. 8. Збільшена кількість тимічних тілець Гассалья в тимусі спонтанно хворих орнітобактеріозом курей-бройлерів (показано стрілками). Гематоксилін-еозин. Ок. 10, об. 40

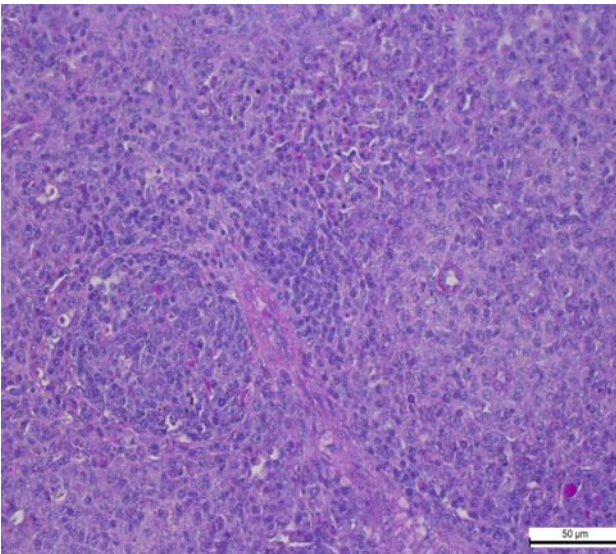


Рис. 9. Селезінка клінічно здорових курей-бройлерів. Периліпсоїдна лімфоїдна муфта і периартеріальна лімфоїдна піхва білої пульпи. Мак-Манус. Ок. 10, об. 20

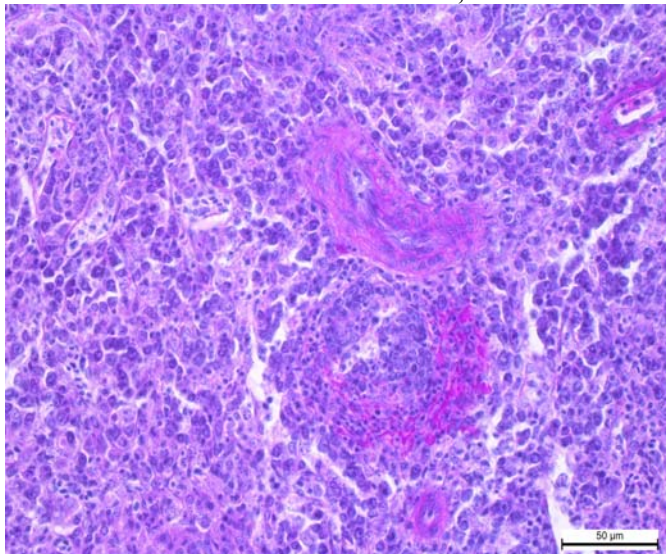


Рис. 10. Селезінка спонтанно хворих орнітобактеріозом курей – бройлерів. Периліпсоїдна лімфоїдна муфта просочена білками плазми крові. Мак-Манус. Ок. 10, об. 40

Висновки

За орнітобактеріозу курей–бройлерів в імунних органах виявлено:

– у клоакальній сумці – атрофію часточок (лімфофолікулів), що виразилось різким зменшенням кіркової зони, внаслідок інтенсивного зменшення кількості В–лімфоцитів та плазматичних клітин;

– у тимусі – гіперемію, у кірковій зоні нещільне заповнення малими лімфоцитами та збільшення в ній слабодиференційованих форм, а в мозковій зоні – значну кількість тілець Гассала;

– у селезінці – атрофію лімфоїдної тканини, що проявлялась різким зменшенням Т–лімфоцитів у періартеріальних лімфоїдних муфтах, спустошенням В–залежних зон та просяканням білками крові стінок судин, проникнення їх за межі судин та утворення фібрилярних структур у їх просвітах.

Виявлена на морфологічному рівні редукція імунних структур, декомпенсація різних клітинних систем, які беруть участь в імунній відповіді, вказує на розвиток імуносупресивного стану.

Перспективи подальших досліджень: вивчення ультраструктурних змін в органах імунної системи курей–бройлерів за спонтанного орнітобактеріозу.

Бібліографічні посилання

- Widley, P. (2013). Immunity to bacterial infection in the chicken / Widley P. // *Developmental and comparative immunology*. 41, 413–417.
- Vrakin, V.F., Sidorova, M.V. (1984). *Anatomija i gistologija domashnej pticy* : uceb. Posobie. M.: Kolos (in Russian).
- Kolych, N.B. (2006). *Morfofunkcional'ni osoblyvosti kloakal'noi' sumky ptahiv: avtoref. dys. na zdobuttja nauk. stupenja kand. vet. nauk* : spec. 16.00.02. Kyi'v, 2006. 23 (in Ukrainian).
- Dmitrieva, G.A. (2003). *Morfologicheskie osobnosti immunnoj sistemy kur. Rol' s.–h. nauki v stabilizacii i razvitii agropromyshlennogo proizvodstva Krajnego Severa. Jakut. nauch.–issled. in–t sel. hoz–va.* – Novosibirsk, 216–217 (in Russian).
- Glisson, J.R. (1998). Bacterial respiratory diseases of poultry. *Poultry Science*. 77(8), 1139–1142.
- Merkulov, G.A. (1969). *Kurs patologo–gistologicheskoy tehniki*. L.: Medicina (in Russian).
- Pirs, Je. (1962). *Gistohimija teoreticheskaja i prikladnaja*. M.: Inostr. lit. (in Russian).

Стаття надійшла до редакції 5.10.2016