

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.15421/nvlvet8329
<http://nvlvet.com.ua/>

UDC 619:611.081:616.988:636.4

Pathomorphological characteristic of immune organs for circovirus infection of piglets

G. Kotsyumbas, M. Shkil

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

Article info

Received 07.02.2018
Received in revised form
07.03.2018
Accepted 12.03.2018

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-097-580-47-18
E-mail: galyna.kotsyumbas@gmail.com
schkilmaria@gmail.com

Kotsyumbas, G., & Shkil, M. (2018). Pathomorphological characteristic of immune organs for circovirus infection of piglets. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. 20(83), 150–155. doi: 10.15421/nvlvet8329

The article elucidates the results of pathoanatomical and histological searches of peripheral immune organs for circovirus infection of piglets. In one of the farms of Transcarpathian region among the pigs of 3–4 months of age were found clinically ill animals, blood was taken, serum test was performed and circovirus was diagnosed. The pathoanatomical autopsy of 12 corpses of piglets was done. During the autopsy of corpses macroscopic changes were studied and samples of mesenteric lymph nodes and spleen were taken, which were fixed in 10% neutral formalin, dehydrated in alcohols of increasing concentration, followed by sealing and filling with paraffin. From paraffin blocks, histological cuts were made, stained with hematoxylin and eosin, using the Van Gizon method. Light microscopy and photographing were performed using a Leica DM-2500 (Switzerland) microscope and Leica DFC450C cameras and the Leica Application Suite Version 4.4 software. For macroscopic examination, in all cases, hyperplasia of the spleen and serous-hemorrhagic lymphadenitis have been established. For histological examination of mesenteric lymph nodes in sick piglets with cirrhosis against a background of severe congestive hyperemia, diapedeous hemorrhages, exudation, there was a sharp decrease in the number of lymphocytes in the lymph nodes, activation of reticuloendothelial cells, transformation of them into epithelioid and formation of giant cells. The detection of polycarocytes in the lymph nodes of sick piglets on the circus is a morphological confirmation of the cytopathic effect of the virus. The histological search of the spleen of pigs for circovirus infection on the background of blood filling, edema of trabeculae, plasma permeation of vascular walls was marked by an intensive decrease in the number of white pulp cells, as evidenced by a sharp decrease in the lymph nodes themselves. The revealed histostructural changes indicated a depletion of the spleen, suppression of its generative function, and an immunosuppressive state of one of the organs of immunogenesis.

Key words: pigs, circovirus, immune organs, pathomorphology, histology.

Патоморфологічна характеристика імунних органів за цирковірусної інфекції поросят

Г.І. Коцюмбас, М.І. Шкіль

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

В статті висвітлені результати патологоанатомічних та гістологічних досліджень периферичних імунних органів за цирковірусної інфекції поросят. У одному з товарних господарств Закарпатської області серед поголів'я свиней 3–4 місячного віку виявлено клінічно хворих тварин, відібрано кров, проведено серологічне дослідження і діагностовано цирковіроз. Проведено патологоанатомічний розтин 12 трупів поросят. Під час розтину трупів вивчали макроскопічні зміни та відбирали взірці мезентеріальних лімфатичних вузлів і селезінки, які фіксували у 10% нейтральному формаліні, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, з наступним уцілюванням і заливкою у парафін. Із парафінових блоків готували гістологічні зрізи, фарбували гематоксином та еозином, за методом Ван-Гізона. Світлову мікроскопію та фотографування проводили за допомогою мікроскопа Leica DM-2500 (Switzerland) та фотокамери Leica DFC450C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4. За макроскопічного дослідження у всіх випадках встановлено гіперплазію селезінки та серозно-геморагічний лімфаденіт. За гістологічного

дослідження мезентеріальних лімфатичних вузлів у хворих на цирковіроз поросят на тлі вираженої застійної гіперемії, діapedезних крововиливів, ексудації відзначали різке зменшення кількості лімфоцитів у лімфатичних вузликах, активізація ретикулоендотеліальних клітин, трансформація їх у епітеліоїдні та формування гігантських клітин. Виявлення полікаріоцитів у лімфатичних вузлах хворих поросят на цирковіроз є морфологічним підтвердженням цитопатичного ефекту вірусу. За гістологічного дослідження селезінки свиней за цирковірусної інфекції на тлі кровонаповнення, набряку трабекул, плазматичного просочування стінок судин відзначали інтенсивне зменшення кількості клітин білої пульпи, про що свідчило різке зменшення самих лімфатичних вузликів. Виявлені гістоструктурні зміни вказували на виснаження селезінки, пригнічення її генеративної функції та імуносупресивний стан одного із органів імуногенезу.

Ключові слова: свині, цирковіроз, імунні органи, патоморфологія, гістологія.

Вступ

Останніми роками в свиногосподарствах України стали часто реєструвати цирковірусні інфекції. Проведеними серологічними дослідженнями дорослого свиногоголів'я в деяких країнах світу виявлено значне поширення вірусу PCV-2 серед тварин (Belkin et al., 2007; Kartashov and Kljuchnikov, 2008). Захворюванню піддаються не всі свині, багато із них є носіями вірусу протягом усього життя без будь-яких виражених клінічних ознак. У першу чергу хворіють ослаблені тварини. Джерелом агента інфекції є хворі і латентно інфіковані тварини, які виділяють вірус з фекаліями, сечею, слиною, носовими і очними секретами. Ще одним шляхом розповсюдження є внутрішньоутробне інфікування плода, коли вірус передається від матері поросяткам ще в утробі через плаценту. Це також призводить до існування контингенту стійко інфікованого поголів'я (Rubinskij et al., 2005). У господарствах в період спалаху хвороби загибель поросят збільшується в 3–4 рази (Chianini et al., 2001).

Проте основні фактори, що запускають клінічний прояв інфекції, зрозумілі ще в недостатній мірі. Одні дослідники стверджують, що для розмноження та розповсюдження збудника цирковірозу в організмі свиней необхідні інші «додаткові фактори», зокрема активна імунізація, супресивний стан імунної системи, присутність в організмі інших агентів – вірусів, бактерій, найпростіших. Цирковірусна інфекція свиней часто може протікати в асоціації з трансмісивним гастроентеритом, парвовірусним ентеритом, репродуктивно-респіраторним синдромом, пастереллезом, мікоплазмозом (ензоотична бронхопневмонія поросят). Інші дослідники відзначають, що патогенез пов'язаний з деяким порушенням імунної системи, а імуносупресивний стан є загальною ознакою для всіх представників сімейства Circoviridae (Chianini et al., 2001; Allan et al., 1998; Lukert and Allan, 1999).

У доступній літературі нами не знайдено робіт присвячених вивченню мікроструктурних змін в лімфатичних вузлах та селезінці. Морфологічні дослідження торкалися переважно вивчення патологоанатомічної картини хвороби та гістоструктурних змін у нирках та шкірі. Зважаючи на це актуальним є з'ясування мікроструктурних змін в периферичних органах імуногенезу, а саме мезентеріальних лімфатичних вузлах і селезінці.

Матеріал та методи досліджень

У одному з товарних господарств Закарпатської області серед поголів'я свиней 3–4-місячного віку виявлено клінічно хворих тварин, відібрано кров, проведено серологічне дослідження і діагностовано цирковіроз. Проведено патологоанатомічний розтин 12 трупів поросят, які гинули на 5–6 інколи 10 доби після появи клінічних симптомів. На розтині вивчали макроскопічні зміни, відбирали взірці мезентеріальних лімфатичних вузлів і селезінки, які фіксували у 10% нейтральному формаліні, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, з наступним ущільненням і заливкою у парафін. Із парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи, фарбували гематоксиліном та еозином, за методом Ван-Гізона. Світлово мікроскопію та фотографування проводили за допомогою мікроскопа Leica DM-2500 (Switzerland) та фотокамери Leica DFC450C і програмного забезпечення Leica Application Suite Version 4.4.

Результати та їх обговорення

Під час розтину трупів загиблих поросят відзначали блідість слизових оболонок рота, носової порожнини. У тварин, які загинули від цирковірусної інфекції, зміни з боку лімфатичних вузлів були не однотипними. У одних поросят поверхневі пахові, підщелепові, середостінні та мезентеріальні лімфатичні вузли збільшені, сіруватого забарвлення, на розрізі вологі, краї заокруглені. Брижа блискуча, волога, а внаслідок сильного переповнення судин кров'ю набувала темно-фіолетового забарвлення (рис. 1, 2).

Лімфатичні вузли у інших тварин були неоднорідно забарвлені, на розрізі переважно мармурові з чергуванням світло-сірих та червоних ділянок. Краї розрізу вологі, заокруглені, погано сходяться (рис. 3 і 4). Тимус значно зменшений, ущільнений, вузлуватий, сірого кольору.

Світлооптичне дослідження лімфатичних вузлів також показало на неоднозначні зміни в лімфоїдній тканині. У мезентеріальних лімфатичних вузлах, в яких за макроскопічного дослідження на розрізі відзначали мармуровість, чергування темно-вишневих і світло-сірих ділянок виявляли переповнення центральних та периферичних синусів кров'ю.



Рис. 1. Брижа та мезентеріальні лімфатичні вузли



Рис. 2. Лімфатичний вузол на розрізі вологий, сіруватого відтінку



Рис. 3. Лімфатичний вузол на розрізі інтенсивного червоно забарвлення



Рис. 4. Лімфатичний вузол на розрізі вологий, неоднорідно забарвлений

Дилатація синусів, набухання і десквамація ендотеліальних клітин супроводжувалась набряком та діapedезними крововиливами (рис. 5). Відзначали також просякання ретикулярної тканини серозно-геморагічним інфільтратом і проліферацію ретикулярних клітин. Лімфатичні вузлики різко зменшені в об'ємі, мали не завжди чіткі контури, а їх центри розпушені (рис. 6). Густота заселення їх лімфоцитами була значно зменшеною та представлена пухко розміщеними набубнявілими ретикулярними клітинами і в меншій мірі малими та середніми лімфоцитами (рис. 5 і 6).

У поросят з тривалишим перебігом хвороби також відзначали значне збідненням лімфатичних вузликів лімфоцитами на тлі вираженої активізації ретикулярних клітин. Значно зменшені лімфатичні вузлики розміщувалися рідко (рис.7). Центральна частина лімфатичних вузликів розпушена, просвітлена без лімфоїдних елементів, в яких превалювала гіперплазія і гіпертрофія ретикулярних клітинних елементів з подальшою їх трансформацією у епітеліоїдні клітини.

Наявність у світлих центрах розпушено розміщених клітин у вигляді «зірчастого неба», переважно макрофагів із залишками ядер вказувало на цитопатичний ефект та особливу активність розпаду клітинних елементів. При цьому в одних лімфатичних вузликах епітеліоїдноклітинні центри, які утворені макрофагами та епітеліоїдними клітинами були невеликі, а в інших досить обширні (рис. 8). Вторинні лімфатичні вузлики не виявлялись.

У місцях найбільшого скупчення епітеліоїдних клітин формувались гігантські клітини. Округло-овальної форми клітини з еозинофільною цитоплазмою та ексцентричним або хаотичним розміщенням ядер часто виявляли у світлих центрах лімфатичних вузликів. Число ядер коливалось від 2 до 9 (рис. 9 і 10).

У патогенетичному відношенні заслуговує на особливу увагу активізація ретикулоендотеліальних клітин, трансформація їх у епітеліоїдні та формування гігантських клітин (полікаріоцитів).

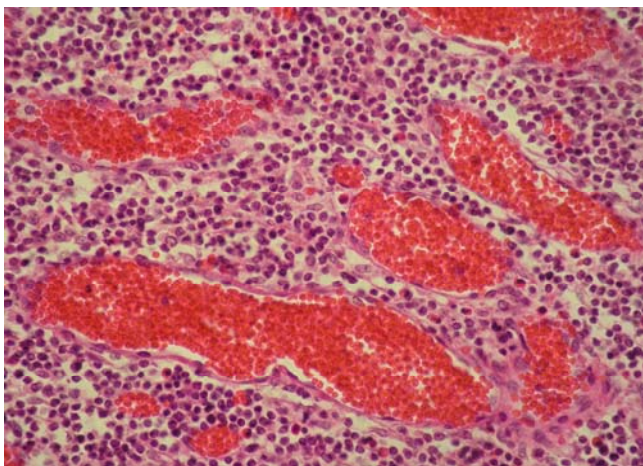


Рис.5. Лімфатичний вузол. Різке розширення та переповнення синусів кровю. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

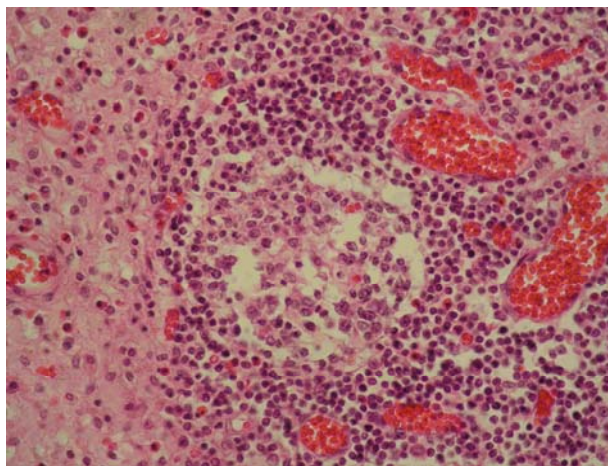


Рис. 6. Спустощення лімфатичного вузлика. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

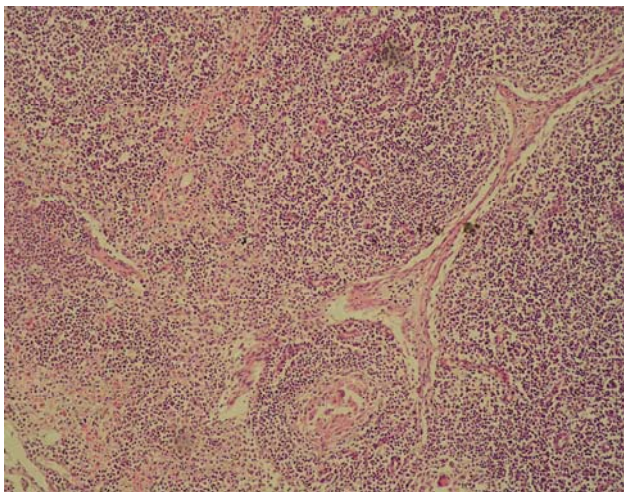


Рис. 7. Лімфатичний вузол. У центрі лімфатичних вузликів - світлі розпушені ділянки. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

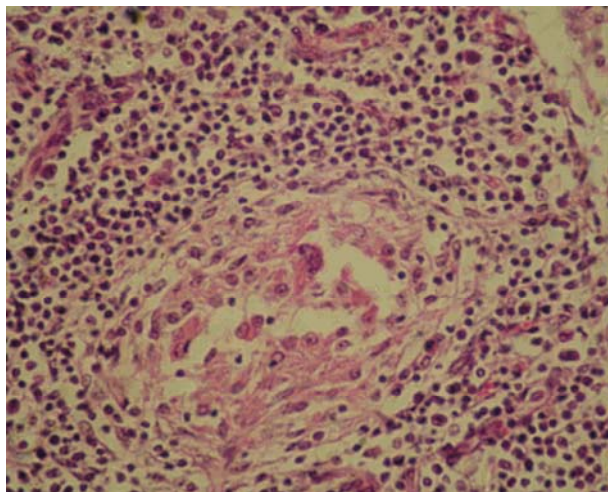


Рис. 8. Епітеліоїдноклітинні центри в лімфатичних вузликах. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

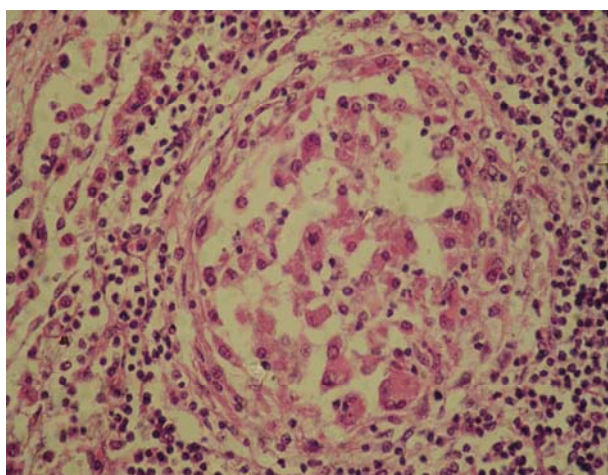


Рис. 9. Епітеліоїдноклітинні центри лімфатичного вузлика. Полікаріоцити. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

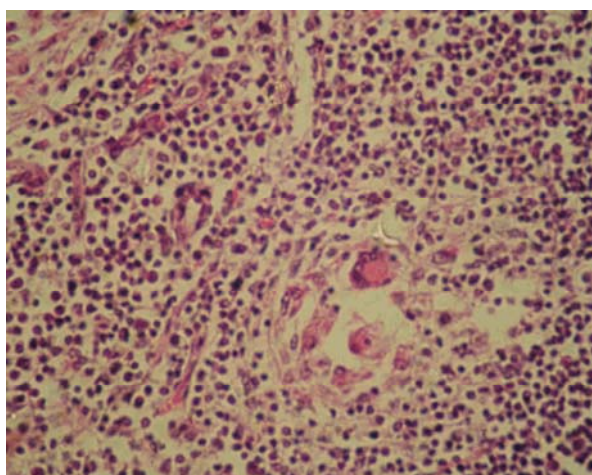


Рис.10. Полікаріоцит. Округло-овальної форми клітини з еозинофільною цитоплазмою та ексцентричним розміщенням ядер. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

Відомо, що лімфатичні вузли є малоефективним фільтром для вірусів і тому вони по різному реагують на них. В одних випадках вірус може розмножуватись в лімфоїдній тканині без цитопатичного ефекту, а в інших розмноження вірусу проходить з цитопатичним ефектом, таким, як утворення включень або гігантських клітин. При цьому підкреслюється, що показником інфікування лімфоїдній тканини при деяких вірусних захворюваннях є утворення гігантських клітин Уорті. Утворення в лімфатичних вузлах гігантських клітин відбувається в результаті злиття вірусної ліпопротеїнової оболонки з плазматичними мембранами сусідніх клітин. Вірус викликає аглютинацію клітин, в результаті чого утворюються мостики між двома клітинними мембранами (клітинні мембрани руйнуються в тому місці, де контактують з віріоном). Тому виявлення полікаріоцитів у лімфатичних вузлах хворих поросят на цирковіроз є морфологічним підтвердженням цитопатичного ефекту вірусу (Fenner et al., 1977).

Отже, за цирковірусної інфекції свиней у лімфатичних вузлах встановлено на тлі вираженої застійної гіперемії різке зменшення лімфоцитів, активізація ретикулоендотеліальних клітин, трансформація їх у епітеліоїдні та формування гігантських клітин. Виявлення полікаріоцитів у лімфатичних вузлах хворих поросят на цирковіроз є морфологічним підтвердженням цитопатичного ефекту вірусу.

За макроскопічного дослідження селезінки у всіх досліджуваних поросят відзначали її збільшення.



Рис. 11. Селезінка хворого поросяти збільшена, краї заокруглені

Серед клітинних елементів переважали середні та великі лімфоцити. Значна частина їх мала виражені ознаки каріорексису.

Повнокрів'я пульпи, просякання трансудатом і розволокнення трабекул, мукоїдне набухання стінок артеріол зумовило збільшення розмірів селезінки.

У поросят, з більш тривалим перебігом хвороби у червоній пульпі відзначали набухання ретикулярних волокон і просякання їх слабо еозинофільною рідиною, зменшений вміст мікро- та макрофагів. У червоній пульпі проходив більш інтенсивний розпад еритроцитів і нагромадження гемосидерину.

Орган неоднорідно забарвлений, часто на світло-фіолетовому тлі виявляли темно-вишнєві припухлі ділянки, капсула напружена (рис. 11). На розрізі зіскріб пульпи значний, темно червоного кольору.

Світлооптичне дослідження селезінки також показало на неоднозначні зміни в лімфоїдній тканині. В одних випадках відзначали виражені судинні розлади, розволокнення трабекул, розширення їх судин, оголення ретикулярної тканини внаслідок збіднення червоної пульпи мікро- та макрофагами. При цьому відзначали значну інфільтрацію червоної пульпи еритроцитами на різних стадіях свого розпаду, що ймовірно і зумовило збільшення органу в об'ємі.

Відомо, при скороченні венозних сфінктерів кров заповнює синуси, розтягує їх стінки, при цьому плазма крові виходить через неї в ретикулярну тканину пульпарних тяжів, а в порожнині синусів накопичуються форменні елементи крові. Це трапляється найчастіше при різкому підвищенні потреби у кисні, коли виникає збудження симпатичної нервової системи та розслабленні сфінктерів (Nemjatyh, 2003).

Стінки центральних артерій лімфатичних вузликів набрякли, просякнуті рідиною, розволокнені. Ендотелій судин набухлий, місцями десквамований. Спостерігали дезорганізацію волокнистих структур навколо артеріол (рис. 12). Лімфатичні вузлики недостатньо чітко сформовані внаслідок зменшення вмісту лімфоцитів (рис. 13).

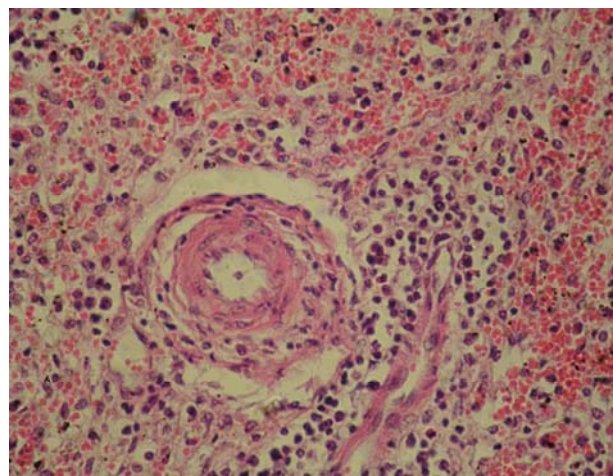


Рис. 12. Селезінка. Стінка центральної артерії лімфатичного вузлика. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

Спостерігалась певна редукція білої пульпи, внаслідок різкого зменшення кількості клітин в Т-залежних зонах. Лімфатичні вузлики переважно невеликі, внаслідок витончення, а то і зникнення мантийної зони. Стінки артеріол лімфатичних вузликів потовщені, внаслідок плазморагії та імбібіції їх стінок плазмовими протеїнами, що призвело до мукоїдного набухання та звуження їх просвіту (рис. 14). Така гістоструктура вказувала на різке пригнічення активності Т-лімфоцитів, а також послаблення клітинного імунітету.

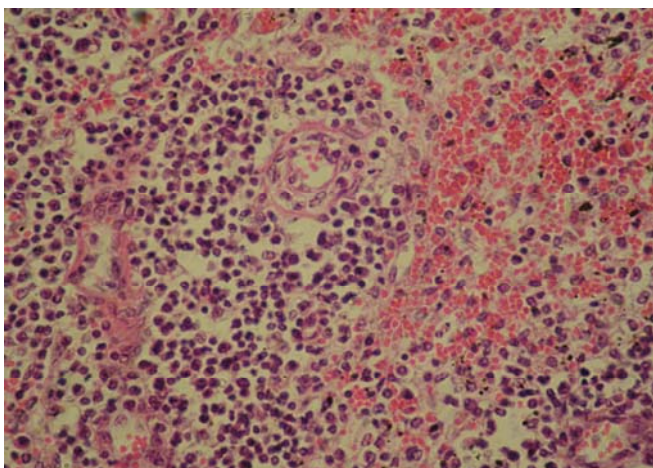


Рис.13. Селезінка. Лімфатичний вузлик. А-центральна артерія л.в. Зменшення вмісту лімфоцитів. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 40

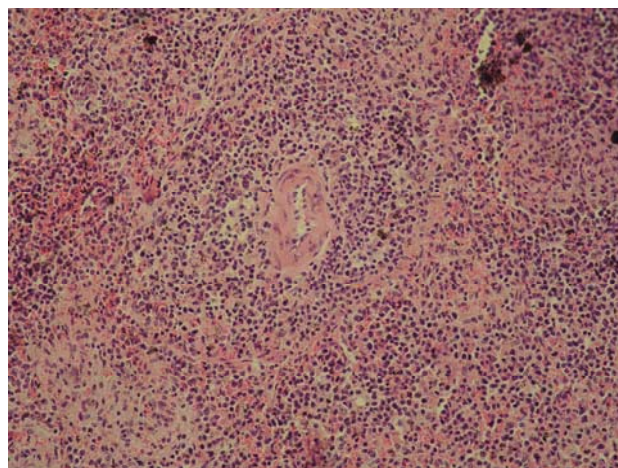


Рис. 14. Селезінка. Стінки артеріол лімфатичних вузликів потовщені, просвіт звужений. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20

Отже, в селезінці свиней за цирковірусної інфекції на тлі кровонаповнення, набряку трабекул, плазматичного просочування стінок судин відзначали інтенсивне зменшення кількості клітин білої пульпи, про що свідчило різке зменшення самих лімфатичних вузликів. Виявлені гістоструктурні зміни вказують виснаження органу та пригнічення генеративної функції селезінки та імуносупресивний стан одного із органів імуногенезу.

Висновки

У хворих на цирковіроз поросят характерними патологоанатомічними змінами є гіперплазія селезінки та серозно-геморагічний лімфаденіт.

За гістологічного дослідження мезентеріальних лімфатичних вузлів у хворих на цирковіроз поросят на тлі вираженої застійної гіперемії, діапедезних крововиливів, ексудації відзначали різке зменшення лімфоцитів, активізація ретикулоендотеліальних клітин, трансформація їх у епітеліоїдні та формування гігантських клітин. Виявлення полікаріоцитів у лімфатичних вузлах, хворих поросят на цирковіроз, є морфологічним підтвердженням цитопатичного ефекту вірусу.

За світлооптичного дослідження в селезінці свиней за цирковірусної інфекції на тлі кровонаповнення, набряку трабекул, плазматичного просочування стінок судин відзначали інтенсивне зменшення кількості клітин білої пульпи, про що свідчило різке зменшення самих лімфатичних вузликів. Виявлені гістоструктурні зміни вказували на виснаження органу, пригнічення генеративної функції селезінки та імуносупресивний стан одного із органів імуногенезу.

References

- Belkin, B.L., Prudnikov, V.S., Malahova, N.A., & Urazaev, D.N. (2007). *Bolezni molodnjaka svinej s diarejnym i respiratornym sindromom*. M., «Kolos» (in Russian).
- Kartashov, S.N., & Kljuchnikov, N.S. (2008). *Soputstvujushhie infekcii pri sindrome mul'tisistemnogo istoshhenija svinej*. Trudy Severo-Kavkazskogo zonal'nogo nauchno-issledovatel'skogo veterinar-nogo instituta. Rosto (in Russian).
- Nemjatyh, O.D. (2003). *Poisk sredstv profilaktiki gipoksii zamknutogo prostranstva*. Dissertacija. Lugansk (in Ukrainian).
- Rubinskij, I.A., Romanova, L.Ja., & Petrova, O.G. (2005). *Organizacija protivopejizooticheskikh meroprijatij v svinovodcheskikh hozjajstvah*. Metodicheskie rekomendacii. Ekaterinburg (in Russian).
- Fenner, F.O., Mak-Oslen, B., Mims, S., Sjembruk, Dzh., & Uajt, D. (1977). *Biologija virusov zivotnyh*. M.: Mir (in Russian).
- Allan, G.M., & Ellis, J.A. (2000). *Porcine circoviruses: a review*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 12(1), 3–14. doi: 10.1177/104063870001200102.
- Allan, G.M., McNeilly, F., & Kennedy, S. (1998). *Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the United States of America and Europe*. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 10(1), 3–10. doi: 10.1177/104063879801000102.
- Chianini, F.L., Majó, N., Segalés, J., Domínguez, J., & Domingo, M. (2001). *Immunohistological study of the immune system cells in paraffinembedded tissues of conventional pigs*. *Vet Immunol Immunopathol*. 82(3–4), 245–255. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11587738>.
- Lukert, P.D. & Allan, G.M. (1999) *Porcine circoviruses*. In: *Diseases of Swine*. Ames, Iowa USA. 119–124.