

УДК: 619:616.98:579.843.96

О. В. РУДОЙ¹, науковий співробітник, здобувач

В. П. РИЖЕНКО¹, доктор ветеринарних наук, професор

І. В. ПАПЧЕНКО², кандидат ветеринарних наук

Інститут ветеринарної медицини НААН, м.Київ¹

Білоцерківський національний аграрний університет, м.Біла Церква²

ГІСТОЛОГІЧНИЙ МЕТОД ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ АКТИНОБАЦИЛЬОЗУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

У статті викладений аналіз диференційної діагностики актинобацильозу від акінобацильозу та інших захворювань. Запропонований метод гістологічної діагностики актинобацильозу. Наголошується, що інфекційні гранульоми залишаються актуальною проблемою у сучасній патології тварин.

Ключові слова: методи диференційної діагностики, актинобацильоз, актиномікоз, інфекційні гранульоми.

Актинобацильоз жуйних тварин розповсюджене захворювання на усій земній кулі, яке частіше виникає у вигляді спорадичних випадків, але іноді у вигляді ензоотій з охопленням у стаді до 70% сприйнятливих тварин. Недостатність інформації щодо біології збудника, патогенезу та діагностики захворювання призводить до того, що більшість фахівців ветеринарної медицини діагностують актинобацильоз як актиномікоз, відносячи збудника актинобацильозу до променевих грибів виду *Actinomycetales*.

У Швеції за відсутності інформації щодо диференціації актинобацильозу від актиномікозу була застосована для статистичної звітності загальна назва "АСТІНОС". Було відмічено, що "АСТІНОС" складав 0,8 % від загального числа зареєстрованих діагнозів і більше 80 % випадків захворювання припало на актинобацильоз і лише до 20 % зареєстровані як актиномікоз [1]. Схожі дані публікують дослідники США і підтверджують, що фактично актинобацильоз був у 50–60% випадків захворювань, зареєстрованих як актиномікоз [2].

На даний час використовують термін актиноміцети, які мають широке коло частіше грампозитивних аеробних і мікроаерофільних мікроорганізмів, здатних формувати міцелій, які містять спори, палички неправильної форми чи коковидні елементи схожі на друзи [3].

Більшість даних мікроорганізмів є умовно-патогенними і часто зустрічаються як комменсали на слизових оболонках ротової порожнини, верхніх дихальних шляхів, у шлунково-кишковому тракті переважно великої рогатої худоби і овець. Актинобацильоз та актиномікоз схожі за клінічними

ознаками і можуть виникати як первинні або вторинні інфекції, але частіше воротами збудника є травмовані тканини.

Актиномікоз частіше уражує слизову оболонку нижньої губи, щоки та щелепи, вентральні та бокові частини язика. Актинобацильоз проявляє виражену лімфотропність і уражує м'які частини голови та шиї, язик, лімфатичні вузли та внутрішні органи. Розповсюдження актинобацильозу великої рогатої худоби у світі та необхідність збереження поголів'я тварин від вимушеного забою визначає актуальність проблеми діагностики актинобацильозу, із використанням методів диференційної діагностики та розробки засобів специфічної профілактики. [4, 5, 6].

Гранульоми утворенні *Actinobacillus ligneresii* мають білий, іноді з зеленуватим відтінком колір, розмір гранул з бісер < 1мм. За мікроскопічного дослідження у полі зору виявляють Γ^- бактерії оточенні еозинофілами. Також знаходять гранулоцити, макрофаги, клітини Лангерганса, лімфоцити і плазматичні клітини. Поступово запальний процес обростає фіброзною тканиною.

Actinomyces bovis утворює жовтуваті гранули розміром 1–3мм з запахом сірки. У патологічній тканині живі мікроорганізми мають консистенцію м'яких кульок, а змертвілі – являються мінералізовані гранули, стають жорсткими і не рухливими. Вміст гранул має розгалужену Γ^- мережу ниток – міцелій гриба.

Одним з методів діагностики даних захворювань є розміщення гранул у чашку Петрі з додаванням дистильованої води для отримання окремих гранул, які переносять на предметне скельце і обробляють 10% NaOH. Після підсушування і фарбування мазка за мікроскопії легко розрізнити *Act. ligneresii* у мазку [7, 8, 9].

Остаточний діагноз на актинобацильоз повинен залежати від виділення чистої культури збудника з уражених органів, але ізоляція *Act. ligneresii* за хронічного перебігу хвороби та після лікування антибіотиком, мало ймовірна. Тому для отримання чіткої картини потрібна ендоскопія або біопсія для проведення гістологічних і біохімічних тестів [10,11].

Мета – розробити гістологічний метод диференційної діагностики актинобацильозу великої рогатої худоби.

Матеріали і методи. Наукова робота виконувалась в умовах лабораторії анаеробних інфекцій ІВМ НААН, БЦНАУ та неблагополучних господарствах України щодо актинобацильозу.

Матеріалом для досліджень були актинобацильозні гранульоми (міжщелепового простору, лімфатичні вузли, уражені легені).

Обробку тканин проводили з використанням автомата для гістологічної обробки тканин карусельного типу STP – 120. Парафінові зрізи фарбували за методами гематоксилін-еозин та Ван-Гізона.

Результати власних досліджень. Актинобацильоз диференціюють від актиномікозу, процесів спричинених бактеріальною гноєрідною

мікрофлорою, новоутворень (саркоми, лімфоми, фіброми), туберкульозу, фузобактеріозу, лістеріозу тощо.

Актиномікоз частіше уражує кісткову тканину, особливо нижню щелепу. Як і за актинобацильозу утворюються щільні гранульоми, але не рухливі. Друзи у абсцесах містять волокнисті розгалуженні гіфи, які за Грамом фарбуються позитивно. Для установлення діагнозу на актинобацильоз з первинного матеріалу, доцільно інкубувати другий набір проб на поживних середовищах в анаеротермостаті для індикації *Actinomyces bovis*. Тривалість вирощування на поживних середовищах від 3 – 7 діб і більше.

За туберкульозу виникає збільшення лімфатичних вузлів, які містять казеозну некротизовану тканину без гною, яка не утворює гранульоматозну тканину. Поряд з цим, хворі тварини позитивно реагують на туберкулін.

Коринебактерії, фузобактерії, стрептококи і стафілококи можуть викликати абсцеси лімфатичних вузлів та внутрішніх органів. Ці ураження не оточені фіброзною капсулою, а гній не має друз. Бактерії можна культивувати і ідентифікувати на поживних середовищах.

Пухлини можуть викликати спотворене збільшення голови та інших частин тіла великої рогатої худоби. Лімфатичні вузли можуть уражатися первинно, або із метастазуючих вогнищ. Частіше новоутворення не містять гнійного ексудату, вони стерильні. Діагностика новоутворень здійснюється шляхом біопсії та гістологічних досліджень відібраного матеріалу.

За гістологічного дослідження на актинобацильоз великої рогатої худоби у паренхімі легень виявляються невеликих розмірів осередки запалення. Між паренхімою легень, які не втягнуті у запальний процес і осередком запалення (вогнищем запалення) розташована сполучнотканинна капсула із зрілої сполучної тканини, яка пронизана сіткою колагенових волокон.

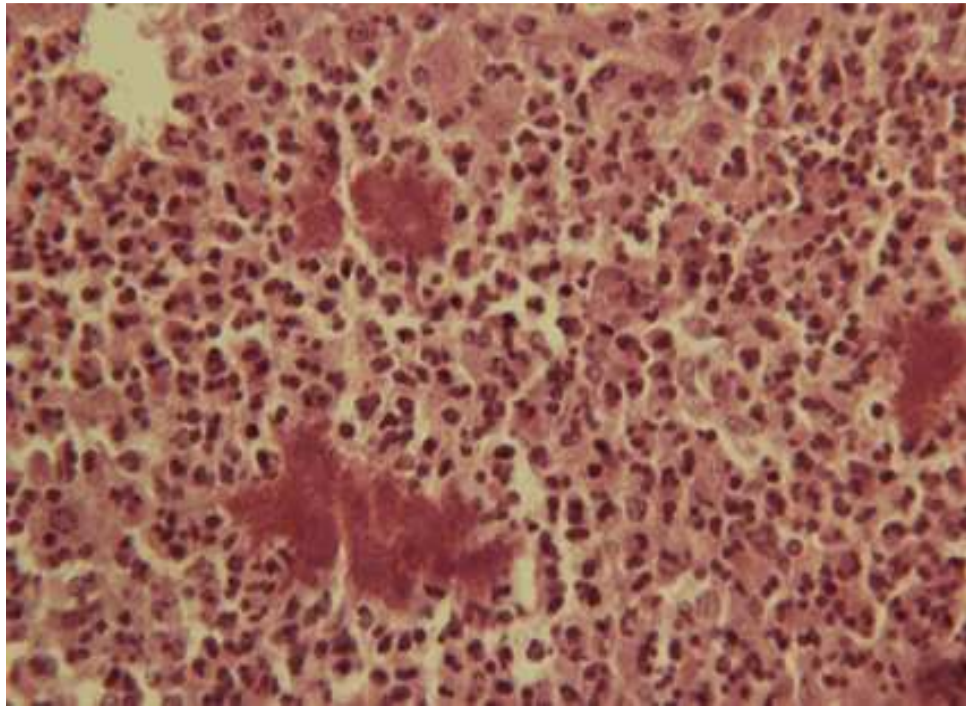


Рис.1. Початок формування актинобацильозних гранульом (заб. гемат. і еоз., зб. имерсійного об'єктива 100х/1,25 Oil)

Під сполучнотканинною капсулою розташована демаркаційна зона із молодих (незрілих) клітин сполучної тканини, які безпосередньо відмежовують гранульому. У самій гранульомі, частіше на межі з клітинами демаркаційної зони, поодинокі або гніздами розташовані скупчення збудника. Рідше такі друзи поодинокі розташовуються у центральній частині гранульоми. На межі з демаркаційною зоною мікроорганізми оточені епітеліоїдними клітинами і мононуклеарними лейкоцитами. Зрідка серед клітин виявляються поодинокі сегментоядерні лейкоцити. За віддалення від демаркаційної зони збудник оточений переважно мононуклеарними лейкоцитами, поодинокими епітеліоїдними клітинами і сегментоядерними лейкоцитами. У центральній частині гранульоми, клітини, які брали участь у її формуванні, піддались некробіозу. Сам збудник являє собою різної форми (часто неправильної) і розмірів оксифільне утворення, зовнішня поверхня якого має невеличкі вип'ячування.

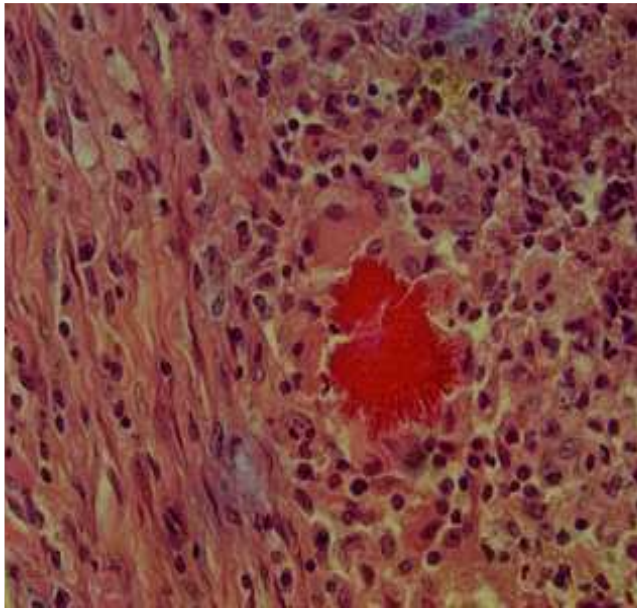


Рис.2. Поодинокі актинобацилярні друзи у центральній частині гранульоми (заб. гемат. і еоз., зб. 10x40)

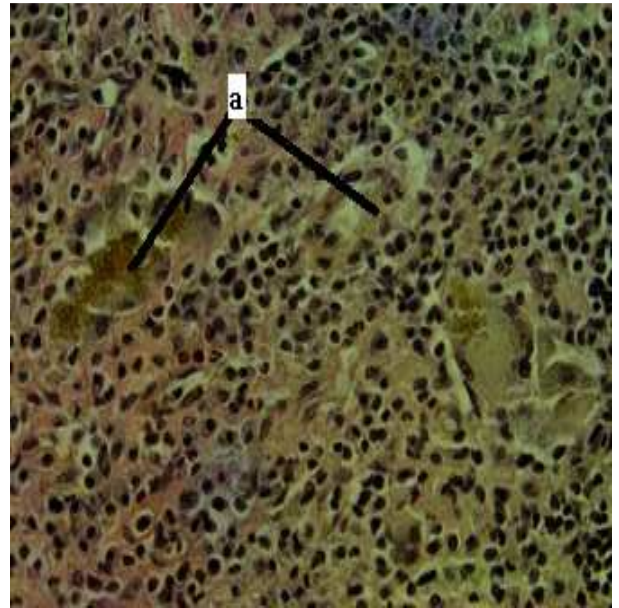


Рис.3. Поодинокі актинобацилярні друзи пронизані сіткою колагенових волокон (заб. за Ван-Гізоном., зб. 10x40)

а) – актинобацилярні гранульоми

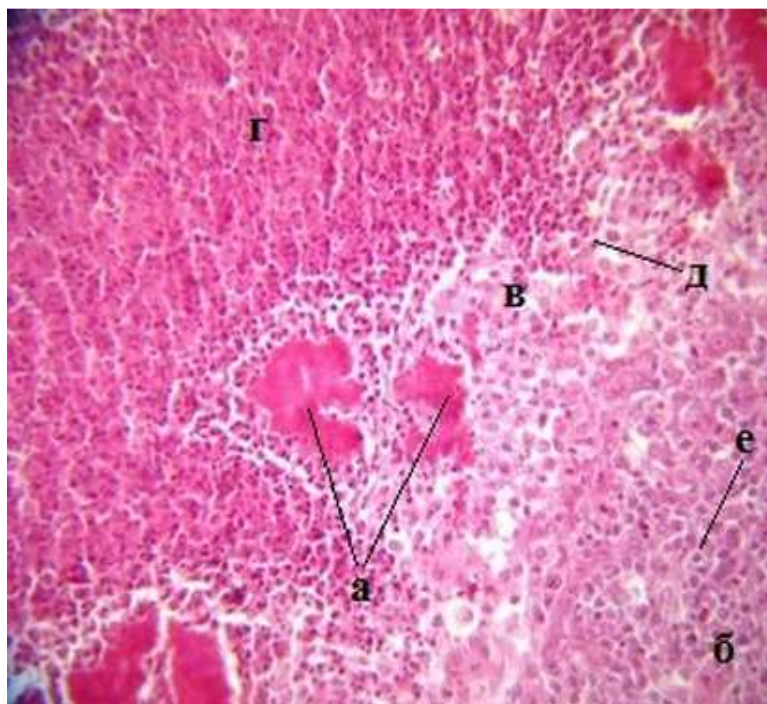


Рис.5. Сполучнотканинна капсула і клітини демаркаційної зони, що обмежують актинобацилярну гранульому (заб. гемат. і еоз., зб. 10x20)

а) – актинобацилярна гранульома;
б) – сполучно-тканинна капсула;
в) – клітини демаркаційної зони;
г) – клітини в стані некробіозу;
д) – епітеліюїдні клітини;
е) – лімфоїдні клітини

Якщо розглянути актинобацилярну друзу, то на гістозрізі, вона зафарбована однотонно у рожевий колір і являє собою скупчення бактеріальних клітин, які однаково сприймають барвник. Як правило, центральну частину актинобацилярної гранульоми становлять відмерлі клітини органа (клітини у стані некробіозу), а по її периферії розташовуються неправильної форми і різних розмірів скупчення актинобацил (друзи). З їх участю і відбувається некроз клітин. А зовні це утворення (гранульома) також відділяється клітинами демаркаційної зони, де переважно виявляються

лімфоїдні і епітеліоїдні клітини. На більш пізніх етапах розвитку, гранульома може обмежуватись спочатку молодими, а потім більш зрілими клітинами сполучної тканини і формуванням сполучнотканинної капсули.

Таке утворення морфологічно відрізняється від актиномікозної друзи.

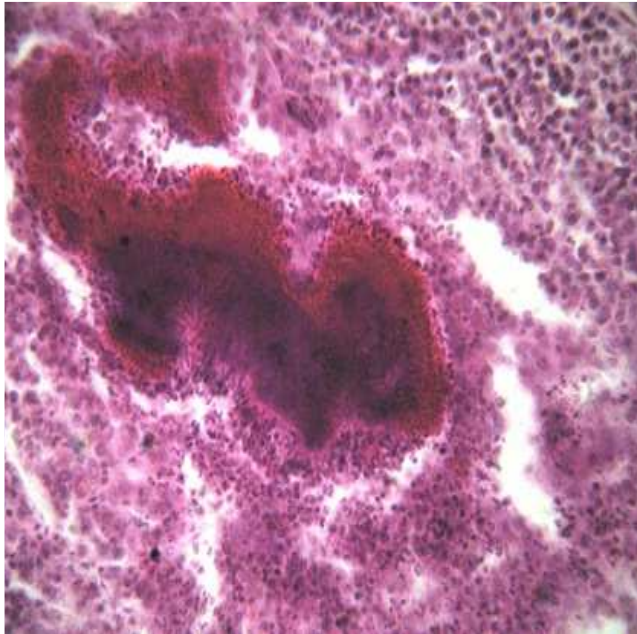


Рис.6. Сформована актиномікозна друза (заб. гемат. і еоз., зб. 10x20)



Рис.7. Актиномікозна гранульома (заб. гемат. і еоз., зб. 10x20)

**а) – актиномікозна гранульома; б) – епітеліоїдні клітини;
в) – мононуклеарні та полінуклеарні лейкоцити**

Остання у своїй центральній частині забарвлюється базофільно (у синій колір), а периферія представлена оксифільними (фарбуються еозином у червоний колір) колбоподібними гіфами. Ці гіфи і формують навколо друзи оксифільний променистий вінець. Друзи актиноміком оточені епітеліоїдними клітинами, мононуклеарними лейкоцитами і значною кількістю полінуклеарних лейкоцитів (нейтрофілів).

Якщо розглядати фотографії із гістозрізів, то можна побачити, що є відмінність між актиномікозними і актинобацильозними друзами. Актиномікозна друза характеризується тим, що вона являє собою сплетіння міцелію на периферії якого виділяється променистий вінець, утворений радіально розташованими і колбоподібно потовщеними гіфами. Центральна частина друзи (представлена сплетінням міцелію) забарвлюється гематоксиліном у синій колір, а периферія – гіфи забарвлюються еозином у рожевий колір. Окрім того, навколо друзи (до моменту абседування) розташована демаркаційна зона із лімфоїдних, епітеліоїдних клітин і невеликої кількості нейтрофілів.

Висновки. 1. Розроблено метод гістологічної діагностики актинобацильозу, який може використовуватись для диференційної діагностики актинобацильозу і актиномікозу тварин.

2. Установлено, що актиномікозні гранули містять малі, непрозорі, жовтуваті, зернисті частини – друзи, які набагато більші від актинобацильозних. Вони утворюють схожих на нитки, променеві структури у гранулах, які фарбуються грампозитивно.

3. Гістологічне дослідження ураженої тканини має принципове значення у діагностиці гранульоматозних уражень, особливо для діагностики новоутворень.

4. За мікробіологічних досліджень збудника виявляють лише у 30 % випадків, а за чіткою картиною гістологічного препарату актинобацильозна чи актиномікозна гранульома та наявністю хронічного запалення діагноз є більш вірогідним.

Пропозиції та перспективи подальших досліджень. Зважаючи на те, що актинобацильоз (лігнієріоз) є зооантропонозною хворобою, вважаємо доцільним поглибити гістологічні дослідження з метою запропонування їх впровадження у ветеринарну і медичну практику.

Список використаної літератури.

1. *Milne M. H*, Barrett D. C, Mellor D. J, O'Neill R, Fitzpatrick J.L. Clinical recognition and treatment of bovine cutaneous actinobacillosis. *Vet Rec.* 2001; 148:273–274.
2. *Дженсон Г.*, Маккей Д. Актинобациллёз. Болезни КРС при помышленном откорме. – М.: “Колос”, 1997. – с. 96 – 101.
3. *Курбатова И. В.* «Нетипичный» актиномикоз — микробиологические аспекты и клинические проявления / И. В. Курбатова, Г. А. Платоная // *Лечащий врач.* — 2008. — N 5. — С. 53-56.
4. *Hebeler, H. F.*, Linton, A. H. & Osborne, A. D. (1961) Atypical actinobacillosis in a dairy herd. *Veterinary Record* 73, 517-521;
5. *Baum, K. H.*, Shin, S. J., Rebhun, W. C. & Patten, V. H. (1984) Isolation of *Actinobacillus lignieresii* from enlarged tongue of a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 185, 792-793;
6. *Хмельницкий О. К.*, Хмельницкая Н. М. Патоморфология микозов человека. СПб.: Издательский дом СПбМАПО. 2005. 432 с.
7. *Mc Gavin M.D.*, Carlton W.W, Zachary J.F, 2001. " Thomson's Special Veterinary Pathology." s.9, 475, 699 Mossby Inc.
8. *Rycroft A. N*, Garside L. H. *Actinobacillus* species and their role in animal disease. *Vet J.* 2000; 159:18–36. doi: 10.1053/tvjl.1999.0403.
9. *Jubb.K.U.F.*, Kennedy.P.C.,Palmer.N., 1993. "Pathology of Domestic Animals" 4 edition vol. 1, 2,3 s.19-20, 105-108, 502-503. Academic Press Inc.
10. *Carter G. R.*,Wise D. J.,2004. "Essentials of Veterinary Bacteriology and Mycology" 6. edition s. 143-144, 199-200. Iowa State Press. USA
11. *Howard & Smith.* 1999. "Current Veterinary Therapy Food Animal Practice" s.348-350, 726. Sanders Company

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ АКТИНОБАЦИЛЛЕЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА/ Рудой А. В., Рыженко В. П., Папченко И. В.

В статье представлен анализ дифференциальной диагностики актинобациллеза от актиномикоза и других заболеваний. Предложен метод гистологической диагностики актинобациллеза. Отмечено, что инфекционные гранулемы остаются актуальной проблемой в современной патологии животных.

Ключевые слова: методы дифференциальной диагностики, актинобациллез, актиномикоз, инфекционные гранулемы.

THE METHOD OF THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CATTLE ACTINOBACILLOSIS WITH HISTOLOGIC TEST / Rudoï A.V., Rizhenko V.P., Papchenko I.V.

An analysis of the differential diagnosis of actinobacillosis from the other diseases was presented in the title. The method of histological diagnosis and differentiation of actinobacillosis from actinomycosis was purposed. An infectious granuloma remain relevant for the modern animals pathology.

Key words: methods of differential diagnosis, actinobacillosis, actinomycosis, infectious granuloma.

Рецензент – кандидат біологічних наук Г. Ф. Риженко.

Рукопис надійшов 22. 07. 2013р.