

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ВЕТЕРИНАРНОЇ  
МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ ІМЕНІ С.З. ГЖИЦЬКОГО**

**ЕВЕРТ ВІКТОР ВІКТОРОВИЧ**

УДК 619:616 (612.41+612.42)

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАТУС ОРГАНІВ КРОВОТВОРЕННЯ ТА  
ІМУННОГО ЗАХИСТУ ПОРОСЯТ ЗА РІЗНИХ ФОРМ ПЕРЕБІГУ  
ЦИРКОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ II ТИПУ**

16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора ветеринарних наук

Львів – 2020

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Дніпровському державному аграрно-економічному університеті Міністерства освіти і науки України

**Науковий консультант** доктор ветеринарних наук, професор  
**Гаврилін Павло Миколайович,**  
Дніпровський державний аграрно-економічний університет, завідувач кафедри нормальної і патологічної анатомії сільськогосподарських тварин

**Офіційні опоненти:** доктор ветеринарних наук, професор  
**Горальський Леонід Петрович,**  
Житомирський національний агроекологічний університет, завідувач кафедри анатомії і гістології;

доктор ветеринарних наук, професор  
**Борисевич Борис Володимирович,**  
Національний університет біоресурсів і природокористування України, професор кафедри патологічної анатомії;

доктор ветеринарних наук, доцент  
**Жила Микола Іванович,**  
Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, завідувач лабораторії клініко-біологічних досліджень.

Захист відбудеться «23» квітня 2020 р. о 10.<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.826.03 у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 50, конференц-зал

З дисертацією можна ознайомитись на офіційному сайті та науковій бібліотеці Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 50

Автореферат розісланий «20» березня 2020 року

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради

О.Б. Прийма

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Цирковірусна інфекція II типу, на сьогодні, є досить актуальною проблемою у свинарстві у світовому масштабі, а ступінь розповсюдження збудника в стадах свиней у більшості країн Європи, Азії та Америки, за результатами моніторингу методом імуноферментного аналізу, досягає 100 % (Allan G.M. et al., 1994; Ellis J.A. et al., 2000; Madec F. et al., 2000; Mori M. et al., 2000; Wellenberg G.J. et al., 2000; Vincent I.E. et al., 2003; Ha Y. et al., 2005; Wen L. et al., 2005; Jacobsen B. et al., 2009).

Економічні збитки за цирковірусної інфекції II типу у свиней пов'язані із суттєвим зниженням продуктивності тварин, внаслідок розвитку різних цирковірусасоційованих синдромів, які клінічно проявляються загальним виснаженням організму, ураженням органів дихання і травлення (Lukert P.D. et al., 1999; Allan G.M. et al., 2000; Guilmoto H. et al., 2000; Trujano M. et al., 2001; Opriessnig T. et al., 2003; Calsamiglia M. et al., 2004; Krakowka S. et al., 2005; Horlen K.P. et al., 2008; Mankertz A., 2008; Segalés J. et al., 2009).

Відомо, що цирковірусасоційовані синдроми є результатом одночасної дії на організм свиней цирковірусу II типу та асоціації інших патогенних мікроорганізмів (Sierra M.A. et al., 1997; Segales J. et al., 2000; Sirinarumitr T. et al., 2000; Ferreira D. et al., 2001; Brockmeier S.L. et al., 2002; Choi C. et al., 2002; Harms P.A. et al., 2002; Madec F. et al., 2002; Opriessnig T. et al., 2004; Wellenberg G.J. et al., 2004; Cheng C.S. et al., 2011). При цьому цирковірус, як один з основних компонентів цих асоціацій, діє як каталізатор, що запускає патологічний процес та визначає його основні патогенетичні ланки. Характерно, що патогенні властивості цирковірусу II типу найбільш виражені у молодих свиней на дорощуванні та відгодівлі у вигляді синдрому мультисистемного виснаження, при якому вищезазначений збудник визначається як первинний етіологічний фактор (Allan G.M. et al., 1999; Carrasco L. et al., 2000; Krakowka S. et al., 2000; Albina E. et al., 2001; Thomson J.R. et al., 2001; Rovira A. et al., 2002; Yang J.S. et al., 2003; Kim J. et al., 2004; Opriessnig T. et al., 2006; Hansen M.S. et al., 2010; Díaz I. et al., 2012).

Клінічні прояви синдрому мультисистемного виснаження у поросят асоційовані тропізмом цирковірусу II типу, який уражує імунокомпетентні клітини – макрофаги та лімфоцити, викликають виражений імунопатологічний ефект (Harding J.C. et al., 1998; Rodriguez-Arrijoja G.M. et al., 2000; Sirinarumitr T. et al., 2000; Krakowka S. et al., 2001; Blanchard P. et al., 2003; Chae C., 2004; Darwich L. et al., 2004; Madec F. et al., 2008; Nielsen E.O. et al., 2008; Wellenberg G.J. et al., 2010; Бенсон П., 2013).

Цирковірус II типу також має здатність до довготривалої персистенції в клітинах імунної системи, зокрема в клітинах, що відносяться до групи мононуклеарних фагоцитів (Allan G.M. et al., 1994; Shibahara T. et al., 2000; Nawagitgul P. et al., 2002; Rodriguez-Arrijoja G.M. et al., 2002; Kim J. et al., 2003; Hamel A.L. et al., 2004; Liu J. et al., 2005; Vincent I.E. et al., 2005; Cortey M. et al., 2011; Oliver-Ferrando S. et al., 2016).

На поточний момент, найбільш докладно досліджені питання класифікації та біології збудника, а також епізоотичні аспекти цирковірусасоційованої інфекції. В науковій літературі є достатньо відомостей про клінічні та загальні патологоанатомічні прояви цієї патології у взаємозв'язку із властивостями різних

варіантів збудника, характером та складом мікробних асоціацій (Tischer I. et al., 1987; Buhk H.J. et al., 1988; Nawagitgul P. et al., 2000; Allan G.M. et al., 2002; Cheung A.K. et al., 2004; Resendes A. et al., 2004; Segalés J. et al., 2004; Yoon K.J. et al., 2004; Liu J. et al., 2006; Duffy C., 2007; Madson D.M. et al., 2008; Hansen M.S. et al., 2010).

Щодо особливостей патоморфологічних проявів за цирковірусної інфекції II типу у свиней, найбільш дослідженим є питання макро- та мікроскопічних змін у периферичних лімфоїдних органах та тканинах, а також внутрішніх органах та шкірі, на фінальних стадіях розвитку хвороби, коли реакції адаптивного специфічного імунітету трансформуються в імунопатологічні. При цьому питання щодо ролі цирковірусу й асоціацій інших мікроорганізмів у пошкодженні різних груп органів у хворих на цирковіроз тварин досі остаточно не з'ясовані (Allan G.M. et al., 2000; Chianini F. et al., 2003; Pensaert M.B. et al., 2004; Kohne K. et al., 2006; Harding J.C. et al., 2008; Szeredi L. et al., 2008).

Враховуючи те, що збудник цирковірусної інфекції II типу у свиней є лімфотропним, а імунна система у ссавців має складну ієрархічну організацію, глибоке розуміння аспектів патогенезу цієї хвороби неможливе без визначення загальної концепції патологічного впливу цирковірусу на різні ланки імунної системи, в тому числі – на різних етапах розвитку інфекційного процесу (McNeilly F. et al., 1999; Johnson C.S. et al., 2002; Shibata I. et al., 2003; Segalés J. et al., 2004; Fort M. et al., 2007; Sarli G. et al., 2008).

Дотепер практично не відомі основні аспекти пошкодження цирковірусом II типу центральних органів імунної системи у свиней. Не визначені характер та динаміка патоморфологічних змін органів імунної системи на етапі формування адаптивного специфічного імунітету за різних типів специфічного реагування (формування клітинного та гуморального імунітету). В науковій літературі наявні суттєві розбіжності щодо розуміння механізмів різного ступеня пошкодження імунної системи свиней за різних цирковірусасоційованих синдромів. Практично відсутні узагальнені дані щодо патоморфологічних змін в органах імунної системи свиней за латентної та субклінічної цирковірусної інфекції II типу, що не мають виражених клінічних проявів.

Отже, розкриття динаміки морфологічних змін за розвитку реактивних та патологічних процесів у центральних та периферичних органах імунної системи свиней за цирковірусної інфекції II типу залежно від різних форм перебігу та на різних стадіях інфекційного процесу є однією з основних умов розвитку та вдосконалення ефективної стратегії профілактики цирковірозів в інтенсивному свинарстві.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано як складову частину науково-дослідної роботи Науково-дослідного центру біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК та кафедри нормальної і патологічної анатомії с.-г. тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету за темою «Розробка сучасної концепції структурно-функціональної організації органів імунного захисту продуктивних тварин із застосуванням молекулярних методів досліджень» (державний реєстраційний номер 0115U007091). Автором особисто виконані дослідження особливостей макро- та мікроскопічної

будови органів імунної системи свині свійської в нормі та за різних форм перебігу цирковірусної інфекції II типу.

**Мета і завдання дослідження.** *Мета роботи* – визначити загальні закономірності патоморфологічних та імунопатологічних змін в організмі свиней з клінічними та патоморфологічними ознаками цирковірусної інфекції II типу, встановити особливості морфофункціонального статусу центральних та периферичних органів імунної системи тварин за різних форм перебігу цієї інфекції.

Для досягнення мети були поставлені такі завдання:

- встановити особливості патоморфологічних та імунопатологічних змін за різних форм цирковірусасоційованих синдромів (клініко-морфологічних форм) у свиней, спонтанно хворих на цирковірусну інфекцію II типу;

- з'ясувати основні структурно-функціональні характеристики центральних органів імунної системи (кістковий мозок, тимус) та закономірності їх патоморфологічних змін у свиней з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції II типу;

- виявити основні структурно-функціональні характеристики периферичних лімфоїдних органів (селезінка, лімфатичні вузли) та закономірності їх патоморфологічних змін у свиней з ознаками латентної та субклінічної інфекції II типу;

- визначити структурно-функціональні характеристики кісткового мозку та особливості патоморфологічних змін кровотворних компонентів скелета свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу;

- встановити структурно-функціональні характеристики тимуса та особливості патоморфологічних змін лімфоїдної паренхіми цього органу у свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу;

- визначити структурно-функціональні особливості та динаміку патоморфологічних змін в периферичних лімфоїдних органах свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу;

- з'ясувати закономірності розвитку морфологічних змін у периферичних лімфоїдних органах клінічно хворих на цирковірусну інфекцію свиней, що обумовлених формуванням адаптивного специфічного імунітету;

- визначити особливості прояву патоморфологічних змін у периферичних лімфоїдних органах свиней, хворих на цирковірусну інфекцію свиней у фазі розвитку імунопатологічних реакцій.

- встановити особливості розвитку реактивних, запальних та імунопатологічних змін за цирковірусної інфекції в лімфатичних вузлах з лімфатичними колекторами інтраабеккулярного типу.

*Об'єкт дослідження* – загальні механізми пошкодження органів імунної системи у свавців збудниками вірусних інфекцій, що мають лімфотропні та імунопатологічні властивості.

*Предмет дослідження* – особливості морфофункціонального статусу, патоморфологічних та імунопатологічних змін у центральних та периферичних органах імунної системи свиней за різних форм перебігу цирковірусної інфекції II типу та на різних стадіях розвитку інфекційного процесу.

**Методи дослідження:** клінічні (визначення специфічних клінічних проявів цирковірусасоційованих синдромів у свиней); лабораторні (ІФА-аналіз, ПЛІР-аналіз, сіквенс-аналіз, бактеріологічні дослідження для визначення етіологічної ролі збудника в розвитку патоморфологічних та імунопатологічних змін, встановлення складу мікробних асоціацій (вірусних і бактеріальних коінфекцій), макроанатомічні та патологоанатомічні (встановлення макроскопічних змін в організмі свиней та органах імунної системи в трупах тварин за спонтанної цирковірусної інфекції та за різних форм її перебігу; класичні гістологічні та цитологічні: забарвлення гематоксиліном та еозином, імпрегнація нітратом срібла за Футом (визначення морфофункціональних мікроанатомічних особливостей органів та характеру патогістологічних та імунопатоморфологічних змін); імуногістохімічний аналіз із використанням специфічних до антигенів цирковірусу антитіл (підтвердження ролі цирковірусу в розвитку патогістологічних змін в органах імунної системи); статистичні методи дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У дисертаційній роботі в результаті комплексного аналізу патоморфологічних та імунопатологічних змін у центральних та периферичних органах імунної системи свиней за різних форм перебігу цирковірусної інфекції II типу вперше доведено, що чисельні клініко-морфологічні різновиди цієї хвороби є не окремими нозологічними одиницями, а лише проявами різного ступеня, глибини та масштабів ураження цирковірусом органів імунної системи. Одночасне ураження збудником центральних органів імунної системи, периферичних анатомічно оформлених лімфоїдних органів, лімфоїдних структур слизових оболонок (лімфоепітеліальні лімфоїдні вузлики) та лімфоїдних структур внутрішнього середовища організму (периваскулярні лімфоїдні вузлики) клініко-морфологічно визначається як синдром мультисистемного виснаження, що відповідає генералізованій формі цирковірусної інфекції.

Переважні локальні ураження збудником внутрішньоорганних лімфоїдних структур характеризуються як органоспецифічні респіраторні та кишкові цирковірусасоційовані синдроми. Розвиток на тлі генералізованої або локалізованої цирковірусної інфекції імунопатологічної реакції гіперчутливості (гіперчутливості III типу), що характеризується ураженням імунними комплексами кровоносних судин нирок і шкіри, визначається як цирковірусобумовлений шкірно-нефротичний синдром.

Уперше детально описаний морфофункціональний статус органів імунної системи свиней за різних форм перебігу цирковірусної інфекції: встановлено, що у тварин з ознаками латентної інфекції патоморфологічні зміни в органах імунної системи відсутні, а антиген збудника локалізується переважно в мононуклеарних фагоцитах; у тварин з ознаками субклінічної цирковірусної інфекції II типу виявляються ознаки формування неповного первинного інфекційного комплексу з ураженням окремих лімфатичних вузлів; у тварин з клінічно вираженою цирковірусною інфекцією II типу виявляються патоморфологічні ознаки локальної (повний первинний інфекційний комплекс) або генералізованої інфекції.

Вперше з'ясовано, що морфологічні зміни в органах імунної системи свиней за клінічно вираженої цирковірусної інфекції мають чітку стадійність та послідовність

на першому етапі ці зміни є проявом формування в організмі тварин адаптивного специфічного імунітету, на другому – запальних та імунопатологічних реакцій.

Уперше визначені закономірності патоморфологічних змін у центральних та периферичних органах імунної системи з клінічно вираженої цирковірусної інфекції: в тимусі та кістковому мозку переважають морфологічні ознаки функціонального виснаження та дегенерації паренхіми, в периферичних лімфоїдних органах – реактивна гіперплазія паренхіми, ознаки серозного або серозно-гнійного запалення та продуктивного осередкового (гранульоматозного) запалення.

Встановлено, що дегенеративні зміни в кістковому мозку на останніх етапах розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу характеризуються кістозним переродженням строми з осередковою проліферацією ретикулярних клітин та формуванням кістоподібних утворень внаслідок некрозу й апоптозу клітин у центральних зонах проліфератів.

З'ясовано, що продуктивне запалення в периферичних лімфоїдних органах свиней з клінічно вираженою цирковірусною інфекцією має низку специфічних рис, обумовлених тропізмом вірусу до макрофагів та лімфоцитів, а саме: відсутність у лімфоїдній паренхімі типових гранул'юм у зв'язку з «толерантністю» збудника до стромальних фібробластичних ретикулярних клітин, внаслідок чого ділянки тотального некрозу тканин не виявляються; дифузний характер розташування макрофагів, епітеліоїдних клітин та полікаріоцитів (гігантських клітин), мінімальна кількість лімфоїдних клітин.

Доведено, що «пріоритетність» розвитку реактивних та запальних змін у центральних (глибоких) зонах паренхіми лімфатичних вузлів свиней із клінічно вираженою цирковірусною інфекцією обумовлена характером лімфопостачання цих органів, коли більша частина аферентної лімфи надходить у глибокі шари паренхіми внаслідок наявності в лімфатичних вузлах свині свійської трабекулярних лімфатичних колекторів та системи лімфатичних «шунтів» за допомогою яких значна частина лімфи з колекторів евакуюється саме в глибокі шари лімфоїдної паренхіми вузлів.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані дані щодо особливостей морфофункціонального статусу органів імунної системи свиней, хворих на цирковірусну інфекцію II типу розширюють і доповнюють сучасні уявлення про механізми розвитку цієї хвороби в умовах інтенсивного свинарства, а також принципи та закономірності формування патологоанатомічних та імунопатологічних змін за різних форм перебігу цієї хвороби.

Встановлені особливості патологоанатомічних та патогістологічних змін в органах імунної системи свиней за цирковірусної інфекції II типу рекомендовано використовувати в комплексній діагностиці цирковірозів, враховуючи патогномонічність для цієї хвороби зміни, а також при оцінюванні ефективності методів профілактики цирковірусної інфекції в господарствах за результатами післязайного моніторингу стану відповідних органів.

Результати вивчення патоморфологічних змін органів імунної системи свиней за різних форм перебігу цирковірусної інфекції II типу пропонується використовувати морфологам, патоморфологам і патофізіологам у науково-

дослідній роботі, а також при укладанні підручників, посібників, інших видів навчально-методичних видань.

Результати дисертаційної роботи були використані при підготовці методичних рекомендацій «Патоморфологічна діагностика цирковірус асоційованих синдромів у свиней», які були розглянуті і схвалені науково-методичною радою факультету ветеринарної медицини Дніпровського ДАЕУ (протокол № 1 від 13 вересня 2018 року).

Основні положення дисертаційної роботи використовуються спеціалістами відповідних відділів Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи, Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок, Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів, Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», регіональних державних лабораторій ветеринарної медицини Київської та Запорізької областей, фахівцями ветеринарної медицини господарств з інтенсивного виробництва свинини (ТзОВ «Прогрес», ТзОВ «Екоміт», ТзОВ «Чорнобай м'ясо», ТОВ «Прогрес-Чорнобай м'ясо», ТзОВ Агрокомплекс Омельне», ПрАТ «Агропромислова Компанія», ПП «Приватна агрофірма «Мюннт»»).

Отримані результати впроваджені в освітній процес при викладанні курсів анатомії, гістології, патологічної анатомії та патологічної фізіології тварин і використовуються у наукових дослідженнях на відповідних кафедрах і в лабораторіях закладів вищої освіти України: анатомії, гістології і патоморфології тварин імені академіка В.Т. Касьяненко НУБіП України (анатомії і гістології Житомирського національного агроекологічного університету; анатомії і гістології тварин імені професора Т.Г. Цимбала Харківської державної зооветеринарної академії; нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С.З. Гжицького) та кафедри патологічної анатомії і гістології Вітебської ордену «Знак Пошани» державної академії ветеринарної медицини (Республіка Білорусь).

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем особисто був визначений напрям наукових досліджень, розроблена та запропонована наукова концепція роботи, розроблені основні етапи досліджень, проведений аналіз наукової літератури за темою роботи, організована та виконана експериментальна частина досліджень, проведено статистичне опрацювання результатів досліджень. Формулювання наукової проблеми й теми, аналіз та узагальнення одержаних результатів виконано автором з методичною допомогою наукового консультанта.

Експериментальні дослідження проведено автором на базі НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського ДАЕУ (директор – кандидат вет. наук, професор Д.М. Масюк)

ІФА та ПЛР-аналіз матеріалу був проведений у відділі молекулярно-генетичного аналізу НДЦ з консультативною допомогою завідувача відділу, старшого наукового співпрацівника, кандидата вет. наук Кокарева А.В.; бактеріологічні дослідження – у відділі бактеріології НДЦ з консультативною



допомогою завідувача відділу старшого наукового співробітника Неверковец Н.Ю.; гістологічні та імуногістохімічні дослідження – у відділі морфології та паразитології з консультативною допомогою кандидата вет. наук, доцента Гавриліної О.Г.; сіквенс-аналіз біологічного матеріалу (сироватки крові) з метою визначення штамів (варіантів) цирковірусу методом ПЛР в реальному часі були проведені в лабораторії Ani Con Labor GmbH (Німеччина).

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на щорічних Міжнародних конгресах зі свинарства ТОВ «Зоетіс Україна», (м. Ялта, 24–27.04.2012 р.; м. Ялта, 13–15.04.2013 р.; м. Київ, 22–24.04.2014 р.; м. Дніпропетровськ, 21–24.04.2015 р.; м. Одеса, 19–22.04.2016 р.); Науково-практичних конференціях з актуальних проблем хвороб свиней в умовах інтенсивного свинарства та особливостей патологоанатомічної діагностики хвороб свиней ТОВ «Зоетіс Україна» (м. Дніпропетровськ, м. Львів, 2012–2016 рр.); Науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології» (м. Тернопіль, Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, 20–21 жовтня 2016 р.); XIV Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (м. Львів, 3–4 грудня, 2015 р.); III Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Інноваційні технології та інтенсифікація розвитку національного виробництва» (м. Тернопіль, 20–21 жовтня 2015 р.); XIII Міжнародній науково-практичній конференції морфологів України «Актуальні проблеми сучасної морфології» (м. Житомир, 1–2 червня 2017 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання виробництва і використання хіміотерапевтичних засобів для тварин» (м. Суми, 26–27 квітня 2018 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Інфекційна патологія тварин: сучасні методи діагностики, лікування та профілактики» (м. Дніпро, 21–22 вересня 2018 р.); Міжнародному науково-практичному симпозиумі «Проблеми біологічної безпеки та контролю транскордонних емерджентних інфекційних захворювань» (м. Харків, 17–19 вересня 2018 р.); Міжнародній науковій конференції «Сучасні епідеміологічні виклики в концепції «Єдине здоров'я» (м. Тернопіль, 11–15 червня 2018 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології тваринництва та ветеринарної медицини» (м. Львів, 4–5 жовтня 2018 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень» (м. Тернопіль, 10–11 жовтня 2019 р.); Наукових конференціях професорсько-викладацького складу, аспірантів та здобувачів наукових ступенів Дніпровського державного аграрно-економічного університету (2013–2019 рр.).

**Публікації.** За темою дисертаційної роботи опубліковано 29 наукових праць, з них – 23 статті у фахових наукових виданнях України, у тому числі: 7 – у виданнях, що входять до наукометричних баз даних, 1 стаття у виданні, що індексується у наукометричній базі Web of Science Core Collection, 4 – у матеріалах конференції, 1 – методичні рекомендації.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота складається із анотацій, вступу, 12 розділів, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел і додатків. Текст дисертації викладений на 332 сторінках комп'ютерного тексту. Матеріали дисертації проілюстровано 93 рисунками і 41 таблицями. Список літератури містить 487 джерел, з них 426 – латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Вибір напрямів досліджень, матеріали та методи досліджень.** Дисертаційна робота виконана протягом 2011–2019 рр. на базі кафедри нормальної і патологічної анатомії с.-г. тварин та науково дослідного центру (НДЦ) біобезпеки та екологічного контролю ресурсів агропромислового комплексу (АПК) Дніпровського державного аграрно-економічного університету (ДДАЕУ) (відділи морфології та паразитології, молекулярно-генетичного аналізу, бактеріології).

Дослідження клінічних проявів цирковірус асоційованих синдромів (ЦВС-синдром, *PCV-2*-інфекція) у свиней проводили на базі свинарських господарств Дніпровської, Запорізької, Донецької, Кропивницької, Полтавської та Черкаської областей, що використовують сучасні інтенсивні технології вирощування та відгодівлі свиней. Тварини у господарствах не були вакциновані проти цирковірусної інфекції II типу (*PCV-2*-інфекції), були вільні від респіраторно-репродуктивного синдрому та грипу свиней, що підтверджено комплексом лабораторних досліджень (імуноферментний аналіз і полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР)).

Патологоанатомічні дослідження трупів свиней та трупів тварин після контрольного забою, а також лабораторні дослідження зразків біологічного матеріалу (сироватка крові, фрагменти органів і тканин) проводили в НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК та прозекторії кафедри нормальної і патологічної анатомії с.-г. тварин ДДАЕУ.

Дослідження проведене в три етапи (схеми 1–3). Клінічно досліджено 637 голів свиней відповідно до стандартних клінічних методів досліджень, з них: поросят на дорощуванні віком 5–8 тижнів (35–56 діб) – 194 голови, поросят на дорощуванні віком 8–13 тижнів (57–91 доба) – 387 голів, свиней на відгодівлі віком 13–16 тижнів (92–112 діб) – 56 голів.

Проведено патологоанатомічний розтин та патогістологічні дослідження органів від 312 трупів свиней, з них 97 голів 5–8 тижневих поросят, 156 голів 8–13 тижневих і 59 голів – 13–16 тижневих. Патологоанатомічний розтин свиней проводили методом повної або часткової евісцерації за загальноприйнятими методиками.

Лабораторну діагностику цирковірус асоційованих синдромів у свиней проводили згідно з рекомендаціями Lopez-Soria S. et al., 2005, методами імуногістохімії, кількісної полімерно-ланцюгової реакції (ПЛР) та імуноферментного (ІФА) аналізу.

Наявність бактеріальних та вірусних коінфекцій визначали шляхом проведення бактеріологічних та ПЛР-досліджень. Генетичні характеристики ізольованого з

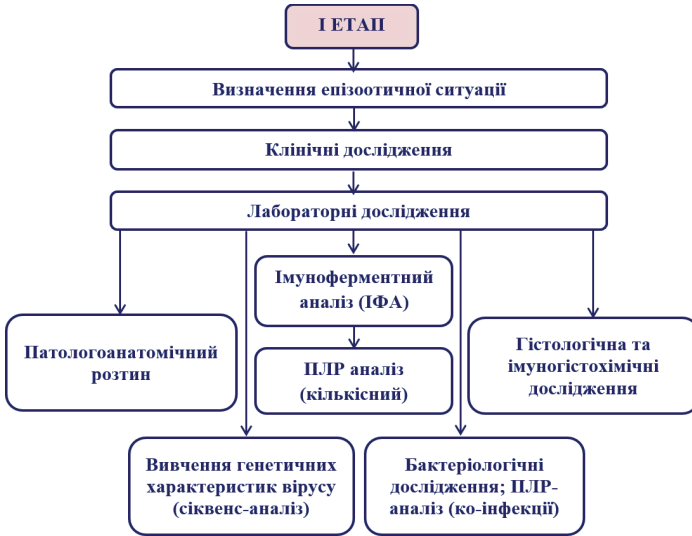


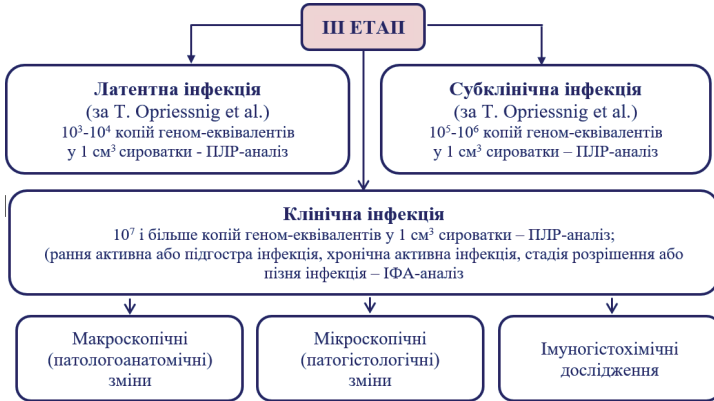
Схема 1. Встановлення діагнозу захворювання на цирковірусасоційовані синдроми та визначення конфекцій

патологічного матеріалу цирковірусу II типу визначали методом сіквенс-аналізу фрагментів ДНК збудника (Opriessnig T. et al., 2006).

Для імуногістохімічних досліджень від трупів тварин відбирали фрагменти лімфатичних вузлів (серединні сегменти) селезінки та лімфоїдних бляшок кишечника, які мали макроскопічні ознаки хронічного проліферативного запалення. Усього досліджено 275 зразків органів і тканин. Імуногістохімічні дослідження проводили із застосуванням прямого методу Кунса (Rodney T. et al., 2001).



Схема 2. Визначення патоморфологічних змін за цирковірусасоційованих синдромів у трупах свиней на фінальних стадіях розвитку хвороби



**Схема 3. Визначення структурно-функціональних характеристик (адаптивних, патологічних та імунопатологічних змін) у центральних та периферичних органах кровотворення та імунного захисту за різних форм цирковірусної інфекції II типу**

Використовували антитіла (IgG) кроля, специфічні до антигенів цирковірусу II типу, як вторинні застосовували антитіла проти IgG кроля, мічені пероксидазою хрому. За основу критеріїв оцінки експресії імуногістохімічних маркерів брали напівкількісний метод Манна-Уїтні. В якості негативного контролю досліджували аналогічні проби від свиней, вільних від цирковірусної інфекції, позитивного контролю – зрізи зі зразків органів клінічно хворих свиней з діагнозом, підтвердженим методами ІФА та ПЛР.

Для ПЛР дослідження відбирали зразки тканин із вираженими макроскопічними патоморфологічними змінами, характерними для цирковірусної інфекції. Використовували тест-системи для виявлення ДНК цирковірусної інфекції свиней II типу в реальному часі ООО «Фрактал Бі» з чутливістю до  $10^3$  геном-еквівалентів в 1 мл вихідної проби. Ампліфікацію та детекцію результатів проводили на приладі CFX 96 Real-Time Systemfirms, BioRad (США) з програмним забезпеченням до нього BioRad CFX Manager. Позитивними вважали зразки тканин в 1 мл яких містилось більше  $10^7$  геном-еквівалентів вірусу. Для ІФА аналізу сироватки крові використовували тест-системи Ingezim Circovirus IgG/IgM II PCV k 2 (Ingenasa, Іспанія). За позитивні вважали зразки в яких показники оптичної щільності IgG були більше ніж 0,900, а IgM понад 1,200.

Секвенування геному ізолятів цирковірусу свиней II типу проводили методом ПЛР-аналізу в лабораторії AniConGmbH (Федеративна Республіка Німеччина).

Для класичних патогістологічних досліджень від трупів свиней відбирали фрагменти кісткового мозку, тимуса, периферичних лімфоїдних органів і тканин з макроскопічними ознаками хронічного проліферативного запалення, а також фрагменти органів грудної та черевної порожнин (легені, серце, печінка, кишечник, нирки) з макроскопічними ознаками різних типів запальних та дистрофічних

процесів, із вмістом у відповідних зразках більш  $10^7$  геном-еквівалентів цирковірусу (в  $1 \text{ см}^3$ ). Усього досліджено 590 зразків органів. Використовували загальноприйняті методи фіксації матеріалу, заливки в парафін, виготовлення парафінових зрізів та їх забарвлення гематоксилином і еозином, азур II еозином (Горальський Л.П., Хомич В.Г., Кононський О.І., 2011).

На третьому етапі, з метою визначення структурно-функціональних характеристик та патоморфологічних змін органів кровотворення та імунного захисту у свиней за різних форм перебігу цирковірусної інфекції, проводили моніторингові дослідження сироваток крові тварин методом кількісного ПЛР-аналізу. Всього було досліджено 275 зразків сироватки крові від поросят 9–18-тижневого віку з 4 господарств трьох областей України.

За результатами досліджень згідно з рекомендаціями Т. Opriessnig et al. (2006) тварини були поділені на 4 групи: 1 група (контрольна) – менше  $10^3$  копій геном-еквівалентів в 1 мл сироватки крові – умовно негативні щодо цирковірусної інфекції II типу (63 голови); 2 група –  $10^3$ – $10^4$  копій геном-еквівалентів в 1 мл сироватки – тварини з ознаками латентної інфекції (57 голів); 3 група –  $10^5$ – $10^6$  копій геном-еквівалентів в 1 мл сироватки – тварини з ознаками субклінічної інфекції (48 голів); 4 група –  $10^7$  та більше копій геном-еквівалентів в 1 мл сироватки – клінічно хворі тварини (107 голів). Остаточний діагноз на захворювання цирковірусну інфекцію у свиней 4 групи був встановлений за результатами комплексних досліджень (клінічні характеристики, патогістологічні зміни після контрольного забою).

Стадію розвитку цирковірусної інфекції II типу у клінічно хворих свиней визначали згідно з рекомендаціями Segales J., Rodriguez J., Resendes A. et al. (2005) шляхом порівняння діагностичних (позитивних) значень оптичної щільності IgG і IgM методом імуоферментного (ІФА) аналізу. За результатами ІФА-аналізу виділено 3 групи тварин: 1 – рання активна (або підгостра) інфекція, перші 20 днів після інфікування  $\text{IgM} \geq \text{IgG}$  (52 голови); 2 – активна (хронічна) інфекція 20–50 днів після зараження  $\text{IgM} < \text{IgG}$  (37 голів); 3 – пізня інфекція (стадія розрешення), більше 50–60 днів після інфікування, відсутність IgM на тлі високих показників IgG (18 голів). За позитивні вважали зразки в яких показники оптичної щільності IgG були більше ніж 0,900, а Ig M понад 1,200.

Для патоморфологічних досліджень органів кровотворення та імунного захисту методом гострого знекровлення проводили забій свиней різних груп: 1 група (контрольна) – 6 голів, 2 група – 6 голів, 3 група – 6 голів, 4 група – 18 голів (6 – рання активна інфекція, 6 – активна хронічна інфекція, 6 – пізня інфекція). Всього досліджено 36 свиней.

Евтаназію тварин проводили після ефірного наркозу, керуючись «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (м. Страсбург, 1986 р.), ухвалою Першого національного конгресу з біоетики (м. Київ, 2001 р.), Закону України № 692 «Про захист тварин від жорсткого поводження» (3447-IV) від 21.02.2006р.

Шляхом анатомічного препарування відбирали необхідний матеріал: кістки з червоним кістковим мозком (грудина, 5 ребро, 5 грудний хребець), тимус, селезінка, соматичні та вісцеральні лімфатичні вузли, звертаючи увагу на наявність

макроскопічних патологічних змін, характерних для цирковірусної інфекції II типу. Усього відібрано 360 органів. Визначали макроскопічні морфометричні показники (абсолютна та відносна маса, лінійні проміри лімфатичних вузлів та селезінки) за загальноприйнятими методиками (Автанділов Г.Г., 1990).

Проводили імуногістохімічні та класичні гістологічні дослідження органів. Зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, азур II еозином, імпрегнували нітратом срібла за Футом у модифікації П.М. Гавриліна (Гаврилін П.М., 1999).

Дослідження гістопрепаратів з метою визначення їх якісних (якісні структурно-функціональні характеристики, патогістологічні зміни) та кількісних характеристик проводили з використанням світлових мікроскопів Olympus CX-41 і Leica DM 1000 (окуляр10x, об'єктиви 10x, 40x, 100x).

Кількісні характеристики паренхіматозних компонентів органів за різних форм перебігу цирковірусної інфекції II типу визначали методом «крапкового підрахунку» за Автанділовим Г.Г. (1990) з використанням окулярних тестових систем з рівно віддаленими крапками на всій площі гістопрепарату.

Відносний об'єм тих чи інших структурних компонентів у гістопрепаратах встановлювали шляхом диференційованого підрахунку крапок, які потрапили на відповідну складову гістопрепарату, не менше ніж на 5 зрізах, отриманих із кожного фрагменту органу, за формулою  $S \text{ відн.} = P_t/P_z \times 100 \%$ , де  $S \text{ відн.}$  – відносна площа відповідних компонентів, %;  $P_t$  – кількість крапок, що потрапили на відповідні структурні компоненти;  $P_z$  – загальна кількість крапок, що потрапили на всю площу гістопрепарату.

У кістках методом крапкового підрахунку визначали відносну площу кісткового мозку, кісткової та хрящової тканини, а також відносну площу окремих клітинних компонентів кісткового мозку: кровотворних, остеогенних, жирових клітин та клітин стромы (ретиккулярні та ендотеліальні клітини, макрофаги, фібробласти). В тимусі – відносну площу міжчасточкової сполучної тканини та лімфоїдної паренхіми, а також відносну площу кіркової та мозкової зон часточок, мікрометричні характеристики тілець Гассала (тимусних тілець). У селезінці – відносну площу сполучної тканини, лімфоїдної тканини з мікрометричними характеристиками (окремо – периартеріальних лімфоїдних муфт та лімфоїдних вузликів). У лімфатичних вузлах – відносну площу сполучної тканини, синусів, лімфоїдної паренхіми та окремих компонентів лімфоїдної паренхіми (кіркве плато, одиниці глибокої кори, лімфатичні вузлики та мозкові тяжі з мікрометричними характеристиками).

У лімфоїдній паренхімі тимуса, селезінки та лімфатичних вузлів визначали відсоткове співвідношення між окремими клітинами (великі, середні, малі лімфоцити; плазматичні та ретиккулярні клітини), макрофаги та інші клітини. Підрахунок клітин паренхіми лімфоїдних органів проводили на препаратах, забарвлених азур II еозином при збільшенні 10x100 під імерсією із розрахунку на кожні 100 клітин на 10 препаратах у 20 полях зору по кожній окремій групі тварин. На основі одержаних даних визначали середній відсотковий вміст кожного виду клітин.

Макрофотографії органів отримували за допомогою фотокамери Canon, мікрофотографії – мікроскопа Leica DM 1000, що був інтегрований з персональним комп'ютером.

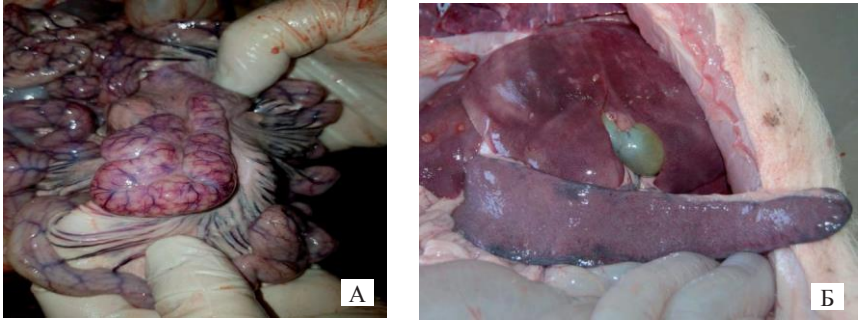
Цифрові показники результатів досліджень обробляли варіаційно статистичними методами на персональному комп'ютері за допомогою комп'ютерної програми «Microsoft Excel» з пакета «Microsoft Office 2010».

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

**Патоморфологічні та імунпатоморфологічні зміни за цирковірус асоційованих синдромів у свиней.** Результати патологоанатомічних досліджень свідчать, що серед досліджених 312 трупів свиней у 180 голів (57,5 %) встановлені характерні макроскопічні ознаки синдрому післявідлучного мультисистемного виснаження або ЦВС-2 системного захворювання, у 78 голів (25,0 %) цирковірусасоційовані пневмонії, у 49 голів (16,0 %) – цирковірус асоційовані ентерити, у 5 голів (1,5 %) – інші синдроми (дермато-некротичний, локальні ураження окремих груп лімфатичних вузлів). Синдром післявідлучного мультисистемного виснаження переважно спостерігався у поросят, що загинули у віці 5–8 тижнів, цирковірусасоційовані пневмонії, відповідно у поросят 8–13 тижневого віку, а цирковірусасоційовані ентерит та шкірно-нефротичний синдром у 13–16 тижневих свиней.

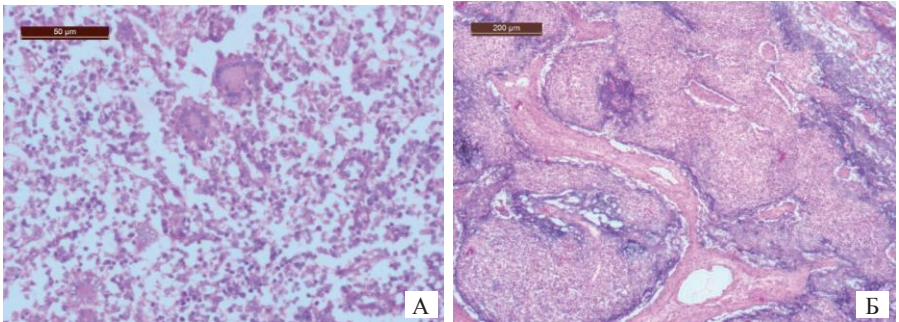
За результатами лабораторних досліджень на наявність бактеріальних та вірусних коінфекцій встановлено, що в поросят із синдромом післявідлучного мультисистемного виснаження бактеріально-вірусні асоціації, крім цирковірусу II типу (*Circovirus type 2*), були представлені такими збудниками, як *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus suis*, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Rotavirus type A*. У свиней із патологоанатомічними ознаками цирковірусасоційованих пневмоній бактеріально-вірусні асоціації склалися з *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Haemophilus parasuis*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasterella multocida*, *Streptococcus suis*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Rotavirus type A*, а у тварин з патологоанатомічними ознаками цирковірус асоційованого ентериту мікробні асоціації були представлені *Lawsonia intracellularis*, *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Rotavirus type A*.

За всіх типів прояву цирковірусної інфекції у свиней патогномічними ознаками патології на фінальних етапах її розвитку є гранульоматозне хронічне проліферативне запалення периферичних лімфоїдних органів та структур від лімфоепітеліальних вузликів слизових оболонок до лімфоїдних утворень внутрішнього середовища організму. На макроскопічному рівні це виявляється збільшенням відповідних органів та структур, появою вираженого «рисунка» стромы, ущільненням органів та набуттям ними світло-сірого кольору (рис. 1).



**Рис. 1. Проліферативний лімфаденіт лімфатичних вузлів порожньої кишки (А) та селезінки (Б) за цирковірусної інфекції II типу**

Універсальні мікроскопічні зміни в периферичних лімфоїдних органах характеризуються лімфоїдним виснаженням, інфільтрацією лімфоїдної паренхіми чисельними макрофагами (гістіоцитами, епітеліоїдні клітини, полікаріоцитами), проліферацією фіброblastів та, в підсумку, втратою характерної гістоархітектоники органу та відповідної зональної структури лімфоїдної паренхіми (рис. 2).



**Рис. 2. Інфільтрація лімфоїдної паренхіми бронхіального лімфатичного вузла гістіоцитами, лімфоепітеліоїдними клітинами та полікаріоцитами (А), лімфоїдне виснаження паренхіми поверхнього шийного лімфатичного вузла за цирковірусної інфекції II типу. Гістопрепарат. Гематоксилін та еозин. x400 (А), x100 (Б)**

Цирковірусний антиген при цьому виявляється переважно в лімфоцитах та макрофагах у паренхімі периферичних лімфоїдних органів та структур. Максимальний ступінь експресії імуногістохімічних маркерів цирковірусу характерний для лімфоїдних структур з помірно вираженим некрозом лімфоцитів, а мінімальний – на тлі розвитку проліферативних процесів у ділянках паренхіми, де переважають фіброblastи та фіброцити (рис. 3).



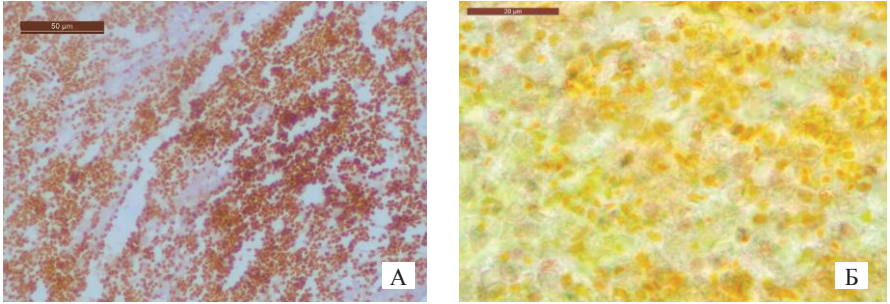


Рис. 3. Позитивне імуногістохімічне забарвлення лімфоцитів та макрофагів у поверхневому пахвинному лімфатичному вузлі за цирковірусної інфекції II типу. x200 (А), x1000 (Б)

На відміну від периферичних лімфоїдних органів у центральних органах імунної системи свиней (кістковому мозку та тимусі) переважають не запальні, а гіпопластичні або атрофічні процеси. В кістках зменшується кількість червоного кісткового мозку в основному за рахунок зменшення кількості острівців кровотворення.

У тимусі зменшується площа кіркової речовини часточок та, навпаки, зростає площа міжчасточкової сполучної тканини. В деяких тварин зникають непарні шийні частки тимуса, які перетворилися на тяжі пухкої сполучної тканини.

Патоморфологічні прояви в нелімфоїдних структурах внутрішніх органів не є специфічними, складаються з комплексу дистрофічних, некротичних та запальних змін, безпосередньо залежать від складу вірусних і бактеріальних коінфекцій, а особливості цих змін безпосередньо залежать від вірулентності, тропізму та біологічних властивостей складових мікробних асоціацій.

Отже, проведені нами комплексні патоморфологічні дослідження трупів свиней із захиттевими клінічними ознаками цирковірусної інфекції II типу в популяціях вільних від інших лімфотропних вірусів (віруси респіраторно-репродуктивного синдрому та грипу свиней), свідчать, що чисельні клініко-морфологічні форми цієї хвороби є не окремими нозологічними одиницями, а лише проявами різного глибини та масштабу ураження цирковірусом периферичних лімфоїдних органів, а також характером ускладнень, зумовлених комплексом бактеріальних та вірусних коінфекцій.

Ми вважаємо, що існують чотири основні типи уражень периферичних лімфоїдних органів у свиней збудником цирковірусної інфекції II типу. Перший тип – це ураження лімфоєпітеліальних вузликів, поодиноких або їх скупчень, у складі слизових оболонок трубкоподібних органів із послідовним розвитком у цих структурах реакцій адаптивного імунітету з переходом в імунопатологічні реакції з проліферативним запаленням та формуванням гранульом. Лімфоїдні структури слизових оболонок є воротами цирковірусної інфекції, а патологічні зміни в цих структурах – морфологічним проявом первинного афекту (первинного осередку цирковірусної інфекції) (табл. 1).

Ураження такого типу описані в науковій літературі як цирковірусасоційовані суто органні зміни – цирковірусасоційовані ентерити, пневмонії (Duran M. et al., 1998; LeCann P., 1998; Ellis J., 1999; Rosell C. et al., 1999; Kim J. et al., 2004; Kekarainen T. et al., 2006). Така патологія характерна для статевозрілих свиней, розвивається переважно у період відгодівлі. Збудник уражує винятково імунні структури слизових оболонок, а регіонарні лімфатичні вузли залишаються без патологічних змін.

Ураження другого типу характеризуються проникненням вірусу в регіонарні лімфатичні вузли з розвитком на кінцевих стадіях інфекційного процесу проліферативного лімфаденіту (Huedepohl B. et al., 1998). Такі ураження характерні для субклінічної цирковірусної інфекції II типу. Відповідні зміни виявляються не більш ніж в одному чи двох лімфатичних вузлах та в лімфоїдних структурах слизових оболонок лише в поодиноких випадках. Ураження органів цього типу можна класифікувати як повний (дуже рідко) або неповний первинний інфекційний комплекс без ознак генералізації інфекції (Kennedy S. et al., 1998; Rosell C. et al., 2000; Thomson J.R. et al., 2002; Segalés J. et al., 2005).

Таблиця 1

**Основні клініко-морфологічні прояви цирковірусної інфекції свиней II типу**

| Масштаби та «глибина» ураження збудником лімфоїдних органів                                                                                               | Характеристики пошкоджень                                                 | Цирковірус асоційовані синдроми                 | Імунопатологічні реакції                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I. Ураження лімфоепітеліальних вузликів слизових оболонок                                                                                                 | Первинний афект                                                           | Цирковірусний ентерит<br>Цирковірусна пневмонія | Гіперчутливість IV типу (гранульоматозна реакція) в лімфоїдних структурах, асоційованих зі слизовими оболонками   |
| II. Ураження лімфоепітеліальних вузликів слизових оболонок та регіонарних лімфатичних вузлів (дуже рідко)                                                 | Повний первинний інфекційний комплекс                                     | Цирковірусна пневмонія<br>Цирковірусний ентерит | Гіперчутливість IV типу (гранульоматозна реакція) в лімфоїдних структурах слизових оболонок та лімфатичних вузлах |
| III. Ураження лімфоепітеліальних вузликів слизових оболонок, регіонарних та видалених лімфатичних вузлів, селезінки, периваскулярних лімфатичних вузликів | Генералізована інфекція (дифузна інтерстиціальна пневмонія, гепатит тощо) | Синдром мультисистемного виснаження             | Гіперчутливість IV типу (гранульоматозна реакція) у всіх периферійних лімфоїдних органах та тканинах              |
| IV. Хвороба імунних комплексів                                                                                                                            | Сенсибілізація                                                            | Шкірно-нефротичний синдром                      | Гіперчутливість III типу (тривала персистенція інфекції)                                                          |

Ураження третього типу характерне для поросят, хворих на синдром мультисистемного виснаження, з проліферативним запаленням імунних структур слизових оболонок, оформлених лімфоїдних органів (лімфатичних вузлів та селезінки), а також, що встановлено нами вперше, лімфатичних вузликів внутрішнього середовища організму (периваскулярних лімфатичних вузликів – лімфатичних та кровоносних судин мікроциркуляторного русла), локалізованих у стромі органів. Ураження лімфоєпітеліальних вузликів слизових оболонок (поодиноких вузликів та їх скупчень або лімфоїдних бляшок) морфологічно виявляється як обмежене проліферативне запалення відповідних органів, водночас ураження збудником чисельних периваскулярних лімфоїдних вузликів в стромі органів виявляється як дифузний інтерстиціальний запальний процес (дифузна інтерстиціальна пневмонія, гепатит тощо). В цілому, такий тип ураження цирковірусом II типу організму свиней можна, на нашу думку, віднести до типової генералізованої інфекції з порушенням тканинних бар'єрів та тотальним розповсюдженням збудника в організмі хворої тварини.

Ураження четвертого типу за цирковірусної інфекції у свиней є клініко-морфологічним проявом сенсibilізації організму тварин до відповідного збудника (гіперчутливості III типу або хвороби імунних комплексів). Реакції гіперчутливості III типу за цирковірусної інфекції III типу у свиней спостерігаються як на тлі синдрому мультисистемного виснаження в його фінальних стадіях розвитку, так і як самостійна патологія у дорослих свиней на відгодівлі, в яких цирковірусна інфекція розвивалася за першим типом, як цирковірусасоційована органопатологія.

**Структурно функціональна характеристика органів кровотворення та імунного захисту свиней (кістковий мозок, тимус, селезінка, лімфатичні вузли) з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції II типу.** Отримані нами результати свідчать, що в тварин у яких в  $1\text{ см}^3$  сироватки нараховувалось не більше  $10^4$  геном-еквівалентів цирковірусу, патоморфологічні зміни в органах імунної системи були відсутні, як і будь-які клінічні ознаки цирковірусної інфекції II типу.

Латентна форма перебігу цирковірусної інфекції у свиней характеризується наявністю антигена збудника винятково в окремих клітинах, переважно в мононуклеарних фагоцитах, без будь-яких макроскопічних ознак ураження лімфоїдних структур слизових оболонок, периферичних лімфоїдних органів або лімфоїдних утворень внутрішнього середовища організму. За даними Pejsak Z., 2010; Cino-Ozuna A.G. et al., 2011; Gamage L.N. et al., 2011; Royer R.L. et al., 2011; Donadeu M. et al., 2013; Seo H.W. et al., 2014, латентна форма перебігу цирковірусної інфекції II типу характерна для тварин з високим імунним статусом у популяціях із високими стандартами утримання та годівлі свиней, суворим додержанням правил дезінфекції, контролем за коінфекціями та використанням відповідних вакцин.

У свиней, в  $1\text{ см}^3$  сироватці крові яких кількість геном-еквівалентів цирковірусу була не більше ніж  $10^6$ , клінічні ознаки цирковірусної інфекції II типу також не спостерігались. При дослідженні органів імунної системи у тварин цієї групи патоморфологічні зміни були встановлені лише в паренхімі окремих лімфатичних вузлів, переважно у вигляді проліферативного запалення. В інших периферичних та

центральных органах імунної системи, на тлі відсутності будь-яких патогістологічних змін, методом імуногістохімічного аналізу виявляли незначний та середній рівень експресії антигенних маркерів збудника цирковірусної хвороби переважно в мононуклеарних фагоцитах та окремих лімфоцитах. Експресія відповідних маркерів у лімфоцитах була виявлена лише в периферичних лімфоїдних органах, а в мононуклеарних фагоцитах також у тимусі та кістковому мозку, переважно в порожнинах судин мікроциркуляторного русла (Calsamiglia M. et al., 2002).

Субклінічна форма перебігу цирковірусної інфекції спостерігається у свиней, що утримуються в невеликих популяціях з обмеженою дією негативних антропогенних чинників, зниження імунного статусу тварин (Young M.G. et al., 2011; Diaz I. et al., 2012; Oliver-Ferrando S. et al., 2012).

За даними ряду дослідників (Balasch M. et al., 1999; Kiupel M. et al., 2001; Sánchez R.E. et al., 2001; Bolin S.R. et al., 2003; Allan G. et al., 2003), інокуляція цирковірусу в організм свиней зазвичай відбувається переважно через слизові оболонки органів дихання і травлення з формуванням або без формування первинного афекту. Цирковірус інокулюється в організм свиней переважно в зонах локалізації імунних структур слизових оболонок (лімфоєпітеліальних вузликів) внаслідок його адгезії на лімфоцитах та фагоцитозу відповідних лімфоцитів мононуклеарними фагоцитами, в яких він зберігається та розповсюджується в організмі.

У тварин з ознаками субклінічної форми цирковірусної інфекції II типу первинний афект не виявляється, генералізації інфекції не відбувається, уражені вірусом лімфоцити локалізуються в регіонарних до місця проникнення збудника в організм лімфатичних вузлах із розвитком комплексу захисно-компенсаторних, імунологічних та імунопатологічних реакцій.

За результатами аналізу морфометричних характеристик органів кровотворення та імунного захисту у свиней з ознаками латентної та субклінічної інфекції нами встановлено, що в органах універсального гемопоєзу (скелеті з кістковим мозком), відносна кількість кісткового мозку, порівняно з контрольними тваринами, достовірно не змінюється.

Кількісні характеристики клітинних компонентів кісткового мозку у свиней з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції II типу також вірогідно не відрізняються від контрольних тварин. Кровотворні клітини складають більшу частину об'єму кісткового мозку у всіх без винятку зонах губчастої кісткової речовини досліджуваних кісток, з максимальною кількістю в зонах первинної губчастої кісткової речовини (від 38 до 71 %). При цьому спостерігається тенденція до збільшення вмісту кровотворних клітин в скелеті свиней з ознаками субклінічної інфекції, що, можливо, є ознакою розвитку компенсаторної реакції на пошкодження збудником клітин у периферичних лімфоїдних органах.

У тимусі свиней з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції основні макроскопічні характеристики не мають суттєвих відмінностей щодо відповідних показників у контрольних тварин.

При проведенні порівняльного аналізу мікроскопічних характеристик встановлені лише тенденції до зменшення площі кіркової речовини та кількості лімфоїдних клітин, в основному імунобластів та лімфоцитів, у тварин з ознаками субклінічної інфекції.

У периферичних лімфоїдних органах (селезінці та більшості соматичних та вісцеральних вузлів) у свиней з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції морфофункціональні зміни, порівняно з контрольною групою, також є несуттєвими, за окремими винятками.

Так органометричні показники лімфатичних вузлів та селезінки, в основному, вірогідно не відрізняються від аналогічних показників у тварин контрольної групи.

У лімфатичних вузлах свиней із латентною формою цирковірусної інфекції, за результатами імуногістохімічного забарвлення, антиген збудника в незначній кількості виявляється в макрофагах лімфоїдної паренхіми, більше у вісцеральних вузлах, ніж соматичних, а також в окремих лімфоцитах у паракорткальних зонах вузлів. При цьому ознаки реактивної гіперплазії лімфоїдної паренхіми вузлів чи некрозу лімфоцитів не спостерігаються.

У поросят з ознаками субклінічної цирковірусної інфекції в поодиноких вузлах, у деяких тварин, виявляються помірно виражені ознаки проліферативного запалення. За результатами імуногістохімічних досліджень антиген вірусу переважно локалізується в макрофагах у різних зонах лімфоїдної паренхіми та в лімфоцитах паракорткальної зони.

**Патоморфологічні зміни центральних органів кровотворення та імунного захисту (кістковий мозок, тимус) свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу.** Виражені клінічні ознаки цирковірусної інфекції II типу ми спостерігали у свиней в 1 см<sup>3</sup> сироватки яких було визначено 10<sup>7</sup> та більше копій геном-еквівалентів збудника. Ці ознаки, на сьогодні, є загальновідомими. Насамперед це загальне виснаження організму тварин, різке зниження або припинення росту маси тіла, ознаки порушення функції органів травлення, дихання та сечовиділення (Заварзин А.А., 1985; Ellis J. et al., 1999; Calsamiglia M. et al., 2002).

Отримані нами результати свідчать, що основні реактивні, запальні та імунопатологічні зміни під час розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції відбуваються в периферичних лімфоїдних органах. На відміну від периферичних лімфоїдних органів у центральних органах імунної системи, хворих на цирковіроз свиней зміни більш однотипні та переважно виявляються поступовим зменшенням (виснаженням) паренхіми, збільшенням кількості стромальних компонентів з ознаками їх проліферації та деградації (розвиток дистрофії та некрозу паренхіматозних структур).

Для органів універсального гемопоезу свиней на стадії ранньої активної інфекції характерне незначне збільшення відносної кількості кісткового мозку в усіх досліджуваних кістках, що відбувається в основному за рахунок зростання відносної площі жирових клітин. При цьому відносна площа кровотворних клітин або несуттєво зростає, або й зовсім не змінюється.

Макро- та мікроструктурні характеристики тимуса свиней на цій стадії розвитку інфекційного процесу є майже аналогічним до відповідних показників тварин із субклінічною інфекцією.

У цілому, морфофункціональні зміни в центральних органах системи кровотворення та імунного захисту свиней на стадії ранньої активної інфекції є несуттєвими і відбуваються в рамках ефективних компенсаторних реакцій.

Ми відмічаємо, що на стадії активної хронічної цирковірусної інфекції запальні процеси в центральних лімфоїдних органах у свиней також не розвиваються, що можливо пов'язано з наявністю гістогематичних бар'єрів у цих органах або з нездатністю цирковіруса реагувати з незрілими лімфоїдними клітинами. Відбувається виражена евакуація клітин паренхіми з кіркової речовини тимуса та червоного кісткового мозку за механізмами акцидентальної інволюції, внаслідок чого в тимусі починають переважати мозкові зони часточок, а в червоному кістковому мозку з'являються ділянки строми, що складаються з ретикулярних клітин та макрофагів і не містять кровотворних клітин.

У центральних органах імунної системи свиней на останніх стадіях розвитку цирковірусної інфекції II типу (пізня інфекція) ознаки запалення також не виявляються. Переважними змінами є дегенеративні (некротичні) перетворення в клітинах строми, внаслідок чого в червоному кістковому мозку формуються чисельні кістоподібні утворення, дифузно розташовані в межах осередків окостеніння від зон росту до їх центральних ділянок (рис. 4).

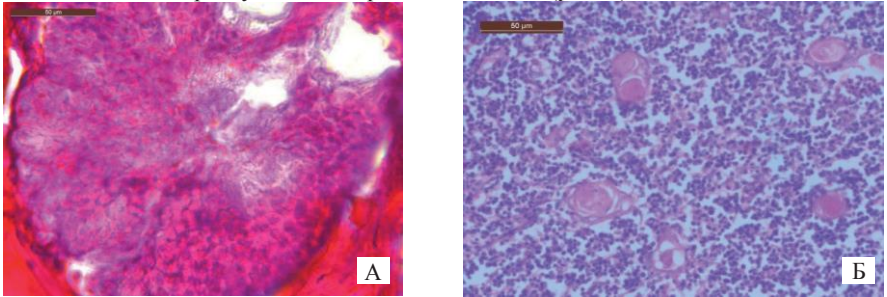


Рис. 4. Кістоподібні утворення в кістковому мозку (А), морфологічні ознаки окцидентальної інволюції тимуса (Б) за клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу. Гематоксилін та еозин. x400 (А), x200 (Б)

За результатами проведених нами морфометричних досліджень органів кровотворення та імунного захисту свиней на різних рівнях структурної організації та стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу встановлено, що в центральних органах кровотворення та імунного захисту органометричні показники від стадії ранньої активної підгострої інфекції до стадії пізньої інфекції мали тенденцію до постійного вираженого зменшення, переважно за рахунок паренхіматозних компонентів.

У результаті відносна площа кісткового мозку та лімфоїдної паренхіми тимуса в стадії пізньої інфекції, порівняно з відповідними показниками тварин на стадії ранньої активної інфекції зменшується в 1,5–2 рази (табл. 2).

Зменшення площі паренхіми в центральних органах кровотворення та імунного захисту поросят відбувається винятково за рахунок кровотворного кісткового мозку та лімфоїдної паренхіми в кіркових зонах часточок тимуса. При цьому такі показники, як площа строми кісткового мозку, сполучнотканинної міжчасточкової строми тимуса, кількість та абсолютні розміри тимусних тілець навпаки зростають.

Таблиця 2

**Динаміка відносної площі кісткового мозку та лімфоїдної паренхіми тимуса поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції, % (M±m, n=6)**

| Тканинний компонент      | Стадії розвитку цирковірусної інфекції II типу |                             |                                 |
|--------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
|                          | Рання активна (підгостра) інфекція             | Активна (хронічна) інфекція | Пізня інфекція (стадія розриву) |
| Кістковий мозок          |                                                |                             |                                 |
| 5 грудний хребець        | 59,63±3,46                                     | 38,42±2,45**                | 35,19±1,13                      |
| 5 ребро                  | 56,84±4,33                                     | 36,19±2,55**                | 32,93±3,13                      |
| 3 сегмент груднини       | 75,19±5,36                                     | 49,34±0,45**                | 47,08±2,13                      |
| Лімфоїдна тканина тимуса |                                                |                             |                                 |
| Шийна парна частка       | 81,16±4,85                                     | 70,43±6,34*                 | 51,28±3,26*                     |
| Шийна непарна частка     | 82,63±4,97                                     | 71,12±6,32                  | 52,16±5,24*                     |
| Грудна частка            | 86,46±4,16                                     | 71,94±5,15*                 | 53,01±2,35***                   |

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з попередньою стадією інфекції.

Серед клітин лімфоїдної паренхіми часточок тимуса найбільш виражено зменшується кількість різних видів лімфоцитів (у 2–7 разів). При цьому відповідний показник макрофагів та епітеліоретикулоцитів навпаки збільшується (в 2,5–4 рази) (табл. 3).

Таблиця 3

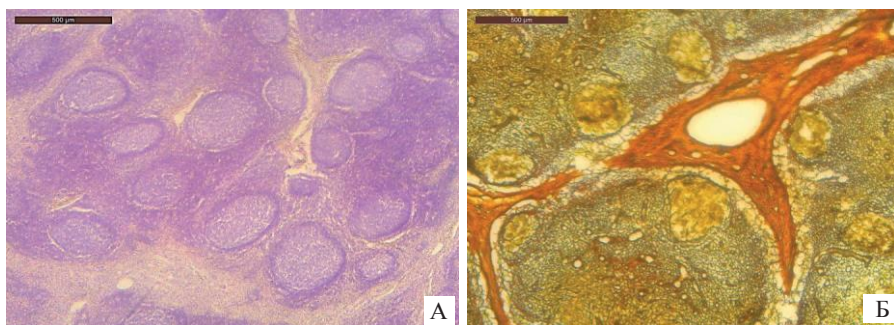
**Динаміка відносної кількості клітин кіркової та мозкової речовини часточок тимуса поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу, штук (M±m, n=6)**

| Клітинні компоненти            | Стадії розвитку цирковірусної інфекції II типу |              |                             |              |                                 |               |
|--------------------------------|------------------------------------------------|--------------|-----------------------------|--------------|---------------------------------|---------------|
|                                | Рання активна (підгостра) інфекція             |              | Активна (хронічна) інфекція |              | Пізня інфекція (стадія розриву) |               |
|                                | Кіркова зона                                   | Мозкова зона | Кіркова зона                | Мозкова зона | Кіркова зона                    | Мозкова зона  |
| Імунобласти і великі лімфоцити | 2,16±0,12                                      | 0,97±0,02    | 1,83±1,12*                  | 0,72±0,03*** | 0,52±0,02***                    | 0,31±0,01***  |
| Середні лімфоцити              | 8,17±1,25                                      | 5,48±0,63    | 7,16±1,23                   | 3,97±0,24*   | 3,68±0,43**                     | 2,93±0,52     |
| Малі лімфоцити                 | 70,13±6,13                                     | 63,14±3,17   | 60,01±5,12                  | 52,94±5,34   | 49,14±4,25                      | 39,62±3,64*   |
| Макрофаги                      | 4,61±0,11                                      | 4,16±0,10    | 8,15±0,32***                | 7,63±0,17*** | 17,06±0,78***                   | 19,27±1,46*** |
| Епітеліоретикулоцити           | 12,41±0,82                                     | 19,14±1,26   | 14,08±1,72                  | 26,01±2,34** | 24,02±1,57***                   | 30,08±3,65    |
| Інші клітини <sup>1</sup>      | 2,52±0,01                                      | 7,11±0,42    | 6,94±0,27***                | 8,73±0,63*   | 5,58±0,57*                      | 7,79±0,68     |

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з попередньою стадією інфекції; <sup>1</sup> – нейтрофільні, еозинофільні гранулоцити, еритроцити.

**Патоморфологічні зміни периферичних органів кровотворення та імунного захисту (селезінка, лімфатичні вузли) свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу.** На першому етапі розвитку цирковірусної інфекції (рання активна інфекція) морфологічні зміни в периферичних органах імунної системи свиней були пов'язані винятково із формуванням адаптивного специфічного імунітету – *Th1* залежної цитотоксичної імунної відповіді та *Th2* залежної, або гуморальної відповіді (Sipos W. et al., 2004).

Морфологічно ці зміни виявляються гіперплазією двох основних функціональних зон паренхіми лімфатичних вузлів та селезінки – лімфатичних вузликів (В-залежні зони) та паракортикальних зон або одиниць глибокої кори (Т-залежні зони) (рис. 5).



**Рис. 5. Реактивна гіперплазія лімфатичних вузликів (А) та одиниць глибокої кори (Б) в паренхімі пахвового лімфатичного вузла 1 ребра на стадії ранньої активної цирковірусної інфекції II типу. Гематоксилін та еозин (А), імпрегнація азотнокислим сріблом (Б). x40**

Отримані нами результати підтверджують наявні в літературі дані про те, що у свиней при синдромі мультисистемного виснаження відсутня виражена поляризація імунної відповіді за *Th1* і *Th2* типи, підтвердженням чого є факт тотальної одночасної реактивної гіперплазії лімфатичних вузликів та паракортикальних зон у периферичних лімфоїдних органах хворих тварин, а також збільшення вмісту в крові й лімфі цитотоксичних клітин (Т-кілерів) та специфічних противірусних антитіл (Chargeure C. et al., 2000; Sipos W. et al., 2004; Liu C. Et al., 2004). Розвиток або гіперплазія спеціалізованих клітинних зон в паренхімі лімфатичних вузлів свиней має певні особливості, не характерні для відповідних органів інших видів ссавців. У свиней кількість лімфатичних вузликів, їх абсолютні розміри та щільність розташування, внаслідок реактивної гіперплазії паренхіми лімфатичних вузлів, більш виражено зростають у центральних зонах або глибоких шарах лімфоїдної паренхіми вузлів. Вищевказані морфофункціональні особливості лімфатичних вузлів свині узгоджуються з концепцією, запропонованою групою японських дослідників. За даними авторів у лімфатичних вузлах свині свійської аферентні судини, як і в інших видів ссавців, розташовані на випуклій, протилежній до ворот поверхні вузлів, але у крайовий синус безпосередньо не відкриваються, а впадають у



лімфатичні цистерни, які розташовані всередині сильно розвинених капсулярних трабекул, і тільки після цього лімфа з цистерн через чисельні лімфатичні канали потрапляє в паренхіму вузлів (Hoshi N. et al., 1986). При цьому ці канали відкриваються не тільки в крайовий синус але й, переважно, в глибокі кіркові синуси лімфатичних вузлів. Ця особливість, імовірно, сприяє швидкому проникненню антигенпрезентуючих клітин у глибокі шари паренхіми вузлів, де й, в основному, формуються лімфатичні вузлики та одиниці глибокої кори. Можливо, така структура лімфатичних вузлів свині свійської сприяє більш ефективному та швидкому реагуванню на антигенне подразнення, коли в реакції на антиген одночасно задіяні всі шари лімфоїдної паренхіми органів.

Реактивна гіперплазія паренхіми периферичних лімфоїдних органів, на етапі ранньої активної інфекції, трансформується в гостре серозне запалення, найбільш виражене в паренхімі лімфатичних вузлів. Розвиток гострих запальних процесів у паренхімі периферичних лімфоїдних органів у свиней, клінічно хворих на цирковіроз, пов'язаний із обумовленим цирковірусом некрозом лімфоцитів як загальною та стандартною реакцією на пошкодження збудником інфекції тканин хворої тварини (Стрельников А.П., 1985; Harding J.C., 2004).

Виникнення незворотніх деструктивних запальних процесів у периферичних лімфоїдних органах хворих на цирковірусну інфекцію свиней є каталізатором розвитку каскаду імунопатологічних реакцій. Провідною ланкою в цьому процесі є лімфотропні властивості цирковірусу, який на певному етапі розвитку реактивної гіперплазії лімфоїдної паренхіми вузлів активує свою здатність до ураження лімфоцитів, що морфологічно виявляється феноменом лімфоїдного виснаження паренхіми периферичних лімфоїдних органів (Батчер Э.С., 1987; Шубина Т.П., 1993; Гаврилин П.Н., 2005).

На відміну від центральних органів кровотворення та імунного захисту, абсолютна маса периферичних лімфоїдних органів, що на стадії ранньої активної підгострої інфекції суттєво не відрізняється від аналогічних показників у тварин із латентною та субклінічною формами перебігу інфекції, протягом розвитку клінічно вираженої інфекції збільшується в декілька разів (селезінки – в 2,5 раза, лімфатичних вузлів – у 3–5 разів соматичних, у 6,5–11,5 раза – вісцеральних).

На тлі збільшення органометричних показників у всіх без винятку досліджених периферичних лімфоїдних органів свиней спостерігається зменшення відносної площі лімфоїдної паренхіми, за рахунок усіх без винятку структурно-функціональних клітинних зон, з остаточною втратою ознак її зональності наприкінці стадії активної хронічної інфекції.

Найбільш виражено зменшується відносна площа спеціалізованих Т- та В-залежних клітинних зон – периартеріальних лімфоїдних муфт, одиниць глибокої кори, лімфатичних вузликів (табл. 4). При цьому відносна площа сполучнотканинної стромы суттєво зростає.

Таблиця 4

**Динаміка відносної площі спеціалізованих клітинних зон у селезінці та деяких лімфатичних вузлах поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу, % (M±m, n=6)**

| Тканинний компонент                  | Стадії розвитку цирковірусної інфекції II типу |                             |                             |
|--------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                      | Рання активна (підгостра) інфекція             | Активна (хронічна) інфекція | Пізня інфекція (розрішення) |
| Селезінка                            |                                                |                             |                             |
| Біла пульпа                          | 27,42±1,25                                     | 8,63±0,94***                | 3,19±0,47***                |
| Періартеріальна лімфатична піхва     | 21,16±1,83                                     | 6,52±0,14***                | 2,27±0,34***                |
| Лімфатичний вузлик                   | 6,26±0,51                                      | 2,11±0,37***                | 0,92±0,07**                 |
| Поверхневий шийний лімфатичний вузол |                                                |                             |                             |
| Кіркове плато                        | 7,02±0,64                                      | 10,00±1,12*                 | 11,04±2,55                  |
| Паракортикальна зона                 | 57,63±8,41                                     | 41,08±7,45                  | 27,84±3,87                  |
| Мозкові тяжі                         | 10,93±1,63                                     | 22,44±4,75*                 | 16,48±1,56                  |
| Лімфатичні вузлики                   | 13,78±2,03                                     | 5,43±0,58***                | 0,57±0,08***                |
| Лімфатичний вузол порожньої кишки    |                                                |                             |                             |
| Кіркове плато                        | 9,12±1,74                                      | 8,19±2,00                   | 11,16±0,88                  |
| Паракортикальна зона                 | 60,36±6,66                                     | 52,17±7,02                  | 30,03±6,64*                 |
| Мозкові тяжі                         | 5,09±0,63                                      | 13,57±1,13***               | 18,26±1,97**                |
| Лімфатичні вузлики                   | 15,97±2,03                                     | 5,94±0,58***                | 0,63±0,08***                |

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з попередньою стадією інфекції.

Серед клітин паренхіми периферичних лімфоїдних органів найбільш суттєво зменшується відносна кількість всіх типів лімфоцитів та плазматичних клітин, тоді як відносна кількість ретикулярних клітин макрофагів і гранулоцитів навпаки збільшується (табл. 5).

Починаючи зі стадії активної хронічної цирковірусної інфекції, на тлі первинного виснаження паренхіми центральних органів імунної системи, в периферичних лімфоїдних органах з'являються ознаки розвитку імунопатологічних реакцій, що вказує на зрив формування набутого імунітету та перехід хвороби в хронічну декомпенсовану стадію.

Ускладнюючим фактором в розвитку імунодефіцитного стану у свиней, хворих на цирковіроз, є процес склерозування паренхіми вторинних лімфоїдних органів як результат активного розмноження стромальних клітин, або фібробластів.

Отже, внаслідок лімфотропних властивостей збудника цирковірусної інфекції та його здатності до персистенції в макрофагах гостра серозна запальна реакція в периферичних лімфоїдних органах свиней на останніх стадіях розвитку цирковірусної інфекції трансформується в хронічний запальний процес у вигляді продуктивного (проліферативного) запалення гранульоматозного типу як

відображення неспроможності до фагоцитозу, що відноситься до імунопатологічної реакції гіперчутливості сповільненого, або IV типу.

Таблиця 5

**Динаміка відносної кількості клітин у спеціалізованих зонах паренхіми лімфатичних вузлів поросят на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу, % (M±m, n=6)**

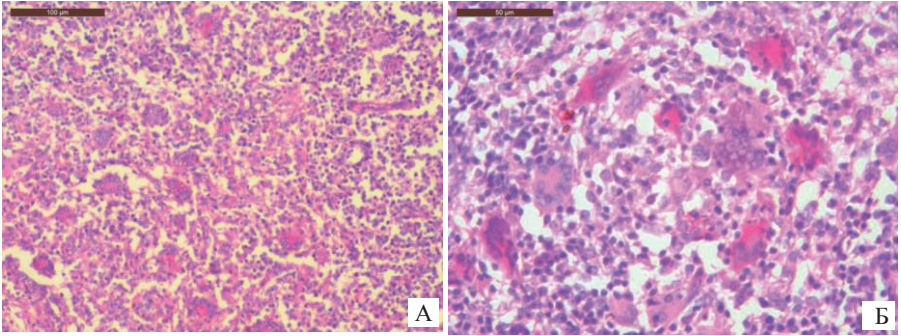
| Види клітин                                 | Стадії розвитку цирковірусної інфекції II типу |                             |                             |
|---------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                                             | Рання активна (підгостра) інфекція             | Активна (хронічна) інфекція | Пізня інфекція (розрішення) |
| <b>Поверхневий шийний лімфатичний вузол</b> |                                                |                             |                             |
| Бласти і великі лімфоцити                   | 2,03±0,65                                      | 0,16±0,04**                 | 0,10±0,02                   |
| Середні лімфоцити                           | 20,13±5,61                                     | 3,12±0,47**                 | 1,96±0,45                   |
| Малі лімфоцити                              | 64,08±10,12                                    | 9,49±0,94***                | 3,18±0,85***                |
| Плазмоцити <sup>1</sup>                     | 1,62±0,23                                      | 0,11±0,02***                | 0,10±0,04                   |
| Ретикулярні клітини                         | 10,00±1,47                                     | 27,16±4,56**                | 30,03±8,41                  |
| Макрофаги                                   | 1,45±0,58                                      | 14,07±2,12***               | 13,12±2,33                  |
| Гранулоцити <sup>2</sup>                    | 0,69±0,10                                      | 0,76±0,14                   | 14,84±2,56***               |
| Епітеліодні клітини та полікаріоцити        | –                                              | 45,13±12,74                 | 36,67±10,28                 |
| <b>Лімфатичний вузол порожньої кишки</b>    |                                                |                             |                             |
| Бласти і великі лімфоцити                   | 1,19±0,05                                      | 0,20±0,02***                | 0,18±0,02                   |
| Середні лімфоцити                           | 22,18±3,17                                     | 2,18±0,50***                | 1,74±0,05                   |
| Малі лімфоцити                              | 65,57±8,07                                     | 18,43±2,46***               | 5,63±0,58***                |
| Плазмоцити <sup>1</sup>                     | 1,14±0,09                                      | 0,33±0,04***                | 0,51±0,04**                 |
| ретикулярні клітини                         | 8,32±1,56                                      | 24,11±2,16***               | 34,29±6,00                  |
| Макрофаги                                   | 1,16±0,12                                      | 15,81±3,42***               | 12,62±1,60                  |
| гранулоцити <sup>2</sup>                    | 0,44±0,10                                      | 1,19±0,10***                | 18,34±1,41***               |
| епітеліодні клітини та полікаріоцити        | –                                              | 37,75±8,14                  | 26,69±4,50                  |

Примітка. \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з попередньою стадією інфекції

<sup>1</sup> – зрілі та незрілі форми плазматичних клітин; <sup>2</sup> – нейтрофільні та еозинофільні гранулоцити.

Продуктивне запалення в периферичних лімфоїдних органах свиней за цирковірусної інфекції II типу має низку відмінностей та специфічних рис порівняно з відповідними процесами, які виникають під час розвитку бактеріальних інфекцій та інвазій, що може бути також обумовлене тропізмом збудника до лімфоцитів та макрофагів. У лімфоїдній паренхімі вторинних лімфоїдних органів свиней, хворих на цирковіроз, на стадії розвитку гранульом ділянки казеозного некрозу тканин не виявляються, що може бути пов'язано з толерантністю збудника до стромальних фібробластичних ретикулярних клітин. У центрах цирковірусних гранульом переважають гістіоцити та епітеліодні клітини, а на периферії полікардіоцити (клітини Пирогова-Лангханса), скупчення лімфоцитів у зовнішній зоні гранульоми

взагалі не виявляються (рис. 6). В окремих лімфатичних вузлах разом із проліферативним лімфаденітом з'являються ознаки нейтрофільного запалення або нейтрофільні інфільтрати, що, імовірно, є ознакою розвитку в організмі тварин сепсису на тлі глибокого імунодефіцитного стану (Meerts P. et al., 2005).



**Рис. 6. Гранульоми в паренхімі поверхневого шийного лімфатичного вузла на стадії пізньої цирковірусної інфекції II типу. Гематоксилін та еозин. x200 (А), x400 (Б)**

Таким чином, патоморфологічні та імунопатологічні зміни в органах імунної системи свиней, інфікованих цирковірусом, є вкрай різноманітними та характерними для кожної форми перебігу інфекції, а також стадії розвитку клінічно вираженого цирковірозу та ієрархічного становища органів кровотворення та імунного захисту. Ці зміни також визначаються поєднанням особливих властивостей збудника (помірна ступінь вірулентності, тропізм до клітин імунної системи, здатність до тривалої персистенції в антигенпрезентуючих клітинах) з феноменом розвитку комплексу імунопатологічних реакцій із пошкодженням тканин унаслідок порушення механізмів клітинного імунітету (Dulac G.C. et al., 2009; Grau-Roma L. et al., 2009).

Характер і алгоритм патоморфологічних змін в органах імунної системи свиней, хворих на клінічно виражений цирковіроз або синдром мультисистемного виснаження, є специфічним окремо для центральних і периферичних лімфоїдних органів, різних стадій розвитку інфекційного процесу, кожна з яких відрізняється особливостями взаємодії збудника з біологічними бар'єрами, механізмами антивірусного захисту та ступенем розладу функції імунологічної реактивності.

Отже, єдиними патогномонічними патоморфологічними ознаками цирковірусної інфекції у свиней є зміна в органах імунної системи: лімфоїдне виснаження та дегенеративні зміни в центральних органах кровотворення та імунного захисту; реактивна гіперплазія, ексудативні та проліферативні запальні процеси в периферичних лімфоїдних органах.

Залежно від масштабів ураження цирковірусом органів імунної системи, можна виділити чотири клініко-морфологічні форми хвороби: локалізована інфекція з ураженням лімфоепітеліальних вузликів слизових оболонок; локалізована інфекція з ураженням лімфоепітеліальних вузликів слизових оболонок та регіонарних

лімфатичних вузлів; генералізована інфекція; шкірно-нефротичний синдром унаслідок розвитку гіперчутливості III типу.

Основними ланками патогенезу цирковірусної інфекції є реактивна дифузно-вузликова гіперплазія паренхіми лімфоїдних органів (імунна відповідь за Th1 та Th2 типами), апоптоз та некроз лімфоцитів двох основних популяцій із розвитком гострої ексудативної запальної реакції в лімфоїдних органах і тканинах, розвиток імунопатологічних реакцій гіперчутливості III та IV типів у периферичних лімфоїдних органах, дегенеративних змін в центральних органах кровотворення та імунного захисту, посилення проліферативних процесів з втратою лімфоїдними органами основних функцій та набуттям вираженого тотального імунодефіцитного стану.

Патогенез цирковірусної інфекції відбувається за типом «порочного кола» з постійним наростанням ступеня імуносупресії. Головною ланкою патогенезу є здатність збудника до персистенції в клітинах системи мононуклеарних фагоцитів з їх надлишковою проліферацією, втратою функцій, утворення чисельних полікаріоцитів та гранульом у паренхімі периферичних лімфоїдних органів.

Будь-які інші патоморфологічні зміни в нелімфоїдних органах свиней за цирковірусної інфекції II типу не можна вважати специфічними для цієї патології. Ці зміни обумовлені чисельними коінфекціями на тлі імуносупресії та повністю залежать від складу та характеру мікробних асоціацій.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведені нові теоретично й експериментально обґрунтовані результати, що, сукупно вирішують наукову проблему визначення загальних закономірностей патоморфологічних та імунопатоморфологічних змін в організмі свиней за спонтанної цирковірусної інфекції II типу і морфофункціонального статусу органів кровотворення та імунного захисту поросят на різних рівнях їх ієрархічної організації за різних форм перебігу цієї інфекції.

1. Аналіз патоморфологічних та імуноморфологічних змін в організмі свиней за різних форм перебігу цирковірусної інфекції II типу свідчить, що чисельні клініко-морфологічні форми цієї хвороби є не окремими нозологічними одиницями, а лише проявами різного ступеня «глибини» та масштабів ураження збудником центральних та периферичних органів імунної системи.

2. Латентна форма перебігу цирковірусної інфекції II типу у свиней характеризується винятково персистенцією збудника в клітинах системи мононуклеарних фагоцитів на тлі відсутності будь-яких інших патоморфологічних або імуноморфологічних змін чи клінічного статусу тварин.

3. Субклінічна форма перебігу цирковірусної інфекції II типу у свиней характеризується ознаками формування неповного первинного інфекційного комплексу з ураженням окремих соматичних або вісцеральних лімфатичних вузлів за типом хронічного проліферативного лімфаденіту.

4. Клінічно виражена форма перебігу цирковірусної інфекції II типу у свиней виявляється комплексом патоморфологічних та імунопатологічних ознак різних стадій розвитку генералізованої інфекції з одночасним ураженням центральних органів імунної системи, периферичних анатомічно оформлених лімфоїдних

органів, лімфоїдних структур слизових оболонок та відповідних структур внутрішнього середовища організму за типом хронічного проліферативного запалення, що позначається як синдром мультисистемного виснаження.

5. Варіантами клінічно вираженої форми перебігу цирковірусної інфекції II типу у свиней є переважно локальні ураження внутрішньоорганних лімфоїдних структур, які визначаються як органоспецифічні респіраторні та кишкові цирковірусасоційовані синдроми, а також розвиток на тлі генералізованої або локалізованої цирковірусної інфекції імунopatологічних реакцій у вигляді реакції гіперчутливості III типу з ураженням імунних комплексів кровоносних судин нирок і шкіри (цирковірусасоційований шкірно-нефротичний синдром).

6. Універсальними патоморфологічними й імунopatоморфологічними змінами в трупах спонтанно інфікованих свиней є макро- та мікроскопічні ознаки хронічного проліферативного запалення периферичних лімфоїдних органів і тканин, що характеризується збільшенням їх розмірів та ущільненням внаслідок лімфоїдного виснаження (некроз та апоптоз лімфоцитів), розмноженням чисельних стромальних механоцитів (фібробластів, фіброцитів та, відповідно, волокнистої міжклітинної речовини). Всі інші види дегенеративних і запальних змін у паренхімі та стромі органів обумовлені дією інших складових мікробних асоціацій на тлі вираженого імунodefіцитного стану в організмі хворих тварин (розвиток синдрому набутого імунodefіциту).

7. Морфологічні й патоморфологічні зміни в центральних органах імунної системи за клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу на стадії ранньої активної або підгострої інфекції характеризуються стабільним структурно-функціональним станом із незначною гіпертрофією паренхіми (кіркової речовини в тимусі та кровотворних острівців у кістковому мозку), на стадіях активної хронічної та пізньої інфекції – в основному проліферативними та дегенеративними змінами. Спостерігається прогресивне зменшення кількості кровотворних острівців у кістковому мозку, осередкова проліферація ретиккулярних клітин кісткового мозку і формування кістоподібних утворень унаслідок некрозу й апоптозу клітин у центральних зонах проліфератів. Для тимуса на цьому етапі характерний поступовий розвиток лімфоїдного виснаження з різким зменшенням кількості лімфоцитів у кірковій речовині часток та її площі в цілому.

8. Морфологічні й патоморфологічні зміни в периферичних органах імунної системи свиней за клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу мають чітко виражену стадійність та послідовність: на першому етапі (рання активна або підгостра інфекція) ці зміни є проявом формування в організмі патологічних змін у вигляді реактивної гіперплазії лімфоїдної тканини; на другому етапі (активна хронічна інфекція та пізня інфекція) – розвитком запальних (гострих та хронічних) та імунopatологічних реакцій.

9. Формування адаптивного специфічного імунітету за цирковірусної інфекції свиней II типу морфологічно виявляється послідовною гіпертрофією та гіперплазією паракортикальних зон (*Th1* залежна цитотоксична відповідь) та лімфатичних вузликів (*Th2* залежна імунна відповідь), збільшенням кількості плазматичних клітин у паренхімі вторинних лімфоїдних органів, запальними реакціями –

розвитком гострого серозного запалення в лімфоїдних органах та тканинах; імунопатологічними реакціями - виникненням у периферичних лімфоїдних органах незворотних деструктивних запальних процесів або продуктивного осередкового (гранульоматозного) запалення.

10. Продуктивне, або гранульоматозне (гістіоцитарно-гранульоматозне), запалення в периферичних лімфоїдних органах свиней як результат хронічної надлишкової стимуляції макрофагів цитокінами *Th1* клітин має низку специфічних рис, обумовлених тропізмом збудника до макрофагів та лімфоцитів: відсутність у лімфоїдній паренхімі типових гранульом з некротичним центром у зв'язку з відсутністю у збудника факторів некротизуючої дії до стромальних ретикулярних клітин, дифузний характер розташування клітин макрофагального ряду від стадії юних моноцитарних фагоцитів до зрілих макрофагів, епітеліоїдних клітин та полікаріоцитів (гігантських клітин Пирогова-Ланхганса), мінімальна кількість лімфоїдних клітин.

11. Пріоритетність морфологічного прояву реактивних запальних та дегенеративних змін в центральних або глибоких зонах паренхіми лімфатичних вузлів свиней за цирковірусної інфекції II типу обумовлена особливостями будови внутрішньовузлового лімфатичного русла, що характеризується наявністю в капсулярних трабекулах вузлів лімфатичних колекторів, більша частина аферентної лімфи з яких по лімфатичних шунтах евакуюється в глибокі шари лімфоїдної паренхіми, що концентрується в основі найбільш розвинених похідних капсули (капсулярних трабекул).

12. За результатами імуногістохімічних досліджень встановлено, що в центральних органах імунної системи свиней за цирковірусної інфекції II типу позитивно забарвлені клітини (моноцитарні фагоцити та лімфоцити) виявляються переважно як складові компоненти крові в порожнині кровоносних судин мікроциркулятивного русла з максимальною кількістю на стадії пізньої інфекції. В периферичних лімфоїдних органах і тканинах позитивно забарвлені макрофаги та лімфоцити локалізуються переважно в межах лімфоїдної паренхіми, рівномірно як в В- так й Т-залежних клітинних зонах, а їх максимальна концентрація встановлена у фазі активної хронічної інфекції на тлі переходу реакцій адаптивного імунітету в імунопатологічні.

13. Патогенез, патоморфологічні та імунопатологічні прояви цирковірусної інфекції II типу у свиней за різних форм її перебігу та на різних клінічно виражених стадіях є, насамперед, результатом одночасного ураження збудником системи мононуклеарних фагоцитів та обох основних популяцій лімфоцитів різного ступеня складності з розвитком стану набутого імунодефіциту локального чи тотального характеру та появою низки ускладнень різного типу, пов'язаних з активізацією вторинної мікрофлори зі специфічними для кожної мікробної асоціації дегенеративними та запальними процесами.

## **ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ**

1. Встановлені макроскопічні та мікроскопічні патогістологічні зміни (ознаки) в центральних та периферичних органах імунної системи свиней за різних форм

перебігу цирковірусної інфекції II типу рекомендується враховувати за комплексної діагностики цієї хвороби (основні матеріали надані у відповідному розділі методичних рекомендацій «Патоморфологічна діагностика цирковірус асоційованих синдромів свиней»).

2. Результати роботи, що стосуються патоморфологічних змін периферичних лімфоїдних органів (піднебінних мигдаликів, лімфатичних вузлів) за субклінічної форми перебігу цирковірусної інфекції II типу, пропонуємо використовувати для оцінки адекватності методів специфічної та неспецифічної профілактики цієї хвороби за результатами комплексного післязайбного моніторингу стану відповідних органів (наявність ознак продуктивного запалення та кількості уражених органів).

3. Визначені особливості будови внутрішньовузлового лімфатичного руслу та гістоархітекtonіки паренхіми в лімфатичних вузлах свині рекомендується враховувати з метою отримання об'єктивних морфофункціональних характеристик цих органів при дослідженні змін паренхіми органів у віковому аспекті, в експерименті та різних патологіях, у тому числі – імунодефіцитних станах.

4. Одержані результати рекомендується використовувати:

- у науково-дослідній роботі при дослідженні аспектів патогенезу та патоморфологічних змін в органах тварин за впливу збудників інфекційних хвороб, що виявляють тропізм до клітин імунної системи;

- при комплексному контролі імунного статусу свиней в умовах інтенсивних технологій їх вирощування та при оцінці статусу центральних і периферичних органів імунної системи у тварин з клінічними ознаками імунодефіциту;

- в освітньому процесі при підготовці навчальної і навчально-методичної літератури з анатомії та гістології тварин, патологічної фізіології та патологічної анатомії, а також викладенні цих дисциплін на факультетах ветеринарної медицини.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

### *Наукові праці, опубліковані у фахових виданнях України:*

1. Гаврилін П.М., **Еверт В.В.** Патоморфологія лімфатичних вузлів свиней на різних стадіях розвитку синдрому мультисистемного виснаження. *Пробл. зооінженерії та вет. медицини: зб. наук. праць Харків. держ. зоовет. акад.* Харків, 2015. Вип. 31, Ч. 2. С. 289–294. (Здобувачем виконані гістологічні та патогістологічні дослідження, проведений аналіз одержаних результатів, підготовлено статтю до друку).

2. Гавриліна О.Г., **Еверт В.В.** Методичні особливості застосування імуногістохімічної діагностики цирковірусної інфекції свиней. *Пробл. зооінженерії та вет. медицини: зб. наук. праць Харків. держ. зоовет. акад.* Харків, 2016. Вип. 32, Ч. 2. С. 294–301. (Здобувачем проведені експериментальні та імунологічні дослідження, узагальнено одержані результати, підготовлено статтю до друку).

3. Гаврилін П.М., Оліяр А.В., **Еверт В.В.** Закономірності адаптивної трансформації тканинних компонентів тимуса поросят у ранньому постнатальному періоді онтогенезу. *Вісник Житомир. нац. агрокол. ун-ту.* Житомир, 2017. Т. 3, № 1 (60). С. 26–32. (Здобувачем відібраний матеріал для досліджень, визначено



особливості кількісних та якісних змін паренхіми тимуса в поросят у постнатальному онтогенезі).

4. Особливості макро- і мікроскопічної структури лімфатичних вузлів свиней різних вікових груп в постнатальний період онтогенезу / П.М. Гаврилін, Н.М. Тішкіна, **В.В. Еверт**, О.М. Мирний // *Проблеми зооінженерії та вет. медицини : зб. наук. праць Харків. держ. зоовет. акад.* Харків, 2017. Вип. 35, Ч. 2. Т. 2. С. 183–188. (Здобувачем відібраний матеріал для досліджень, визначено особливості кількісних та якісних змін лімфатичних вузлів в поросят у постнатальному онтогенезі)

5. Еверт В.В. Цирковірус-асоційовані ентерити: особливості патогенезу, патоморфології та імунопатології. *Бюлетень «Ветеринарна біотехнологія»*. Київ, 2018. № 32 (2). С. 129–137.

6. Еверт В.В. Структурно-функціональні характеристики кровотворних компонентів скелета поросят з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції II типу. *Вісник Дніпр. держ. аграр. ун-ту*. Дніпро, 2018. № 1–2 (47). С. 98–107.

7. Еверт В.В. Синдром мультисистемного виснаження поросят, патоморфологічні та імунопатологічні характеристики. *Наук.-тех. бюлетень ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин*. Львів, 2018. № 2, Т. 19. С. 117–126.

8. Гаврилін П.М., Оліяр А.В., **Еверт В.В.** Закономірності морфогенезу селезінки поросят у ранньому постнатальному періоді онтогенезу. *Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування: зб. наук. праць Харків. держ. зоовет. акад.* Харків, 2018. № 1. С. 112–116. (Здобувачем відібрано матеріал, виконані гістологічні дослідження, підготовлено статтю до друку).

9. Еверт В.В. Патоморфологічна характеристика лімфатичних вузлів поросят з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції II типу. *Науковий журнал «Наукові горизонти»*. Житомир, 2018. № 9–10 (71). С. 59–68.

10. Еверт В.В. Патоморфологічні зміни кровотворних компонентів скелета свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу. *Науковий збірник «Аграрний вісник Причорномор'я»*. Одеса, 2018. № 91. С. 159–174.

11. Еверт В.В. Сучасні методи діагностики цирковірусної інфекції II типу у свиней. *Ветеринарна медицина: міжвід. тем. наук. зб. ННЦ «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини»*. Харків, 2019. С. 119–122.

12. Еверт В.В. Патоморфологічні зміни лімфовузлів свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу. *Науковий журнал «Наукові горизонти»*. Житомир, 2019. № 6 (79). С. 48–58.

#### **Статті в електронних наукових фахових виданнях України:**

13. Гаврилін П.Н., Еверт В.В. Концепція механізмів пошкодження органів імунної системи у свиней при цирковірусної інфекції (синдром мультисистемного истощення) [Електронний ресурс]. *Наук.-техн. бюл. НДЦ біобезпеки та екол. контролю ресурсів АПК*. Дніпро, 2015. Т. 3, № 2. Режим доступу: <http://biosafety-center.com/wp-content/uploads/2015/10/Гаврилін-Еверт.pdf>

(Здобувачем виконано експериментальні дослідження, узагальнено одержані результати, підготовлено статтю до друку).

14. Еверт В.В. Патоморфологічні аспекти цирковірусного гепатиту свиней [Електронний ресурс]. *Наук.-техн. бюл. НДЦ біобезпеки та екол. контролю ресурсів АПК*. Дніпро, 2015. Т. 3, № 3. Режим доступу: <http://biosafety-center.com/wp-content/uploads/2015/12/4.pdf>

15. Еверт В.В. Загальні аспекти патогенезу та механізми розвитку імунопатологічних змін за цирковірусної інфекції свиней [Електронний ресурс]. *Наук.-техн. бюл. НДЦ біобезпеки та екол. контролю ресурсів АПК*. Дніпро, 2017. Т. 5, № 3. Режим доступу: <https://bulletin-biosafety.com/index.php/journal/article/view/155/167>

16. Еверт В.В. Клінічні ознаки та патологоанатомічні зміни в організмі свиней за цирковірусної інфекції [Електронний ресурс]. *Наук.-техн. бюл. НДЦ біобезпеки та екол. контролю ресурсів АПК*. Дніпро, 2017. Т. 5, № 4. Режим доступу: <https://bulletin-biosafety.com/index.php/journal/article/view/156/168>

**Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз даних:**

17. Структурно-функціональна організація кісткового мозку поросят / П.М. Гаврилін, М.О. Лещова, В.В. Еверт, О.М. Мирний // *Наук. вісник Львів. нац. акад. вет. медицини імені С.З. Гжицького*. Львів, 2017. Т. 19, № 77. С. 32–37. (Здобувачем відібрано матеріал для досліджень, виконані гістологічні дослідження, визначені особливості тканинного та клітинного складу кісткового мозку в поросят неонатального і молочного періодів).

18. Еверт В.В. Особливості патогенезу, патоморфології та імунопатологічних проявів цирковірус-асоційованого респіраторного синдрому. *Вісник Сум. нац. аграр. ун-ту*. Суми, 2017. № 1 (42). С. 70–76.

19. Еверт В.В., Гаврилін П.М., Лещова М.О. Морфометрична характеристика органів універсального гемопоезу поросят у період постнатальної адаптації. *Наук. вісник Львів. нац. акад. вет. медицини імені С.З. Гжицького*. Львів, 2018. Т. 20, № 83. С. 17–22. (Здобувачем відібраний матеріал, виконано морфометричні дослідження, підготовлено статтю до друку).

20. Еверт В.В. Структурно-функціональна характеристика тимуса поросят з ознаками латентної та субклінічної цирковірусної інфекції II типу. *Наук. вісник Львів. нац. акад. вет. медицини імені С.З. Гжицького*. Львів, 2018. Т. 20, № 88. С. 72–79.

21. Еверт В.В. Структурно-функціональні характеристики селезінки поросят з ознаками латентної та субклінічної PCV2-інфекції. *Наук. вісник Нац. ун-ту біоресурсів і природокористування України. Серія «Вет. медицина, якість і безпека продукції тваринництва»*. Київ, 2018. Вип. 293. С. 152–161.

22. Еверт В.В. Патоморфологічні зміни тимуса свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу. *Наук. вісник Львів. нац. акад. вет. медицини імені С.З. Гжицького*. Львів, 2019. Т. 21, № 93. С. 113–120.

23. Еверт В.В. Патоморфологічні зміни селезінки свиней на різних стадіях розвитку клінічно вираженої PCV2-інфекції. *Theoretical and Applied. Veterinary Medicine*. Дніпро, 2019. № 7 (2). С. 112–116.

**Статті у наукових виданнях, що індексуються в наукометричній базі Web of Science Core Collection:**

24. Гаврилин П.Н., Гаврилина Е.Г., **Еверт В.В.** Гистоархитектоника паренхимы лимфатических узлов млекопитающих с различными типами строения внутриузлового лимфатического русла. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2017. № 7 (3). С. 96–107. (Здобувачем відібрано матеріал для дослідження від свині свійської, визначено особливості будови внутрішньо вузлового лімфатичного русла в лімфатичних вузлах свині свійської).

**Науково-методичні рекомендації:**

25. Гаврилін П.М. Методичні рекомендації. Патоморфологічна діагностика цирковірусасоційованих синдромів у свиней / П.М. Гаврилін, **В.В. Еверт**. – Дніпро: Літограф, 2019. – 30 с. (Затверджені науково-методичною радою факультету ветеринарної медицини Дніпровського державного аграрно-економічного університету, протокол № 1 від 13 вересня 2018 року. Здобувачем проведені клінічні дослідження, патологоанатомічний розтин трупів свиней, відібраний матеріал, проведені макро- й мікроскопічні дослідження органів кровотворення, імунного захисту та внутрішніх органів свиней хворих на цирковірусну інфекцію II типу).

**Матеріали наукових конференцій:**

26. Гаврилин П.Н., **Еверт В.В.**, Прокушенкова Е.Г. Особенности патоморфологии органов иммунной системы свиней при синдроме мультисистемного истощения в зависимости от стадии развития инфекционного процесса. *Інноваційні технології та інтенсифікація розвитку національного виробництва*: матер. II Міжнародної наук.-практ. конф. (м. Тернопіль, 20–21 жовтня 2015 р.). Тернопіль, 2015. С. 129–130. (Здобувачем відібраний матеріал та виконано патогістологічні дослідження, підготовлено тези до друку).

27. Еверт В.В. Особенности патоморфологии печени свиней за синдрому мультисистемного виснаження. *Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини. Біологія тварин*: зб. матер. XIV Всеукраїнської наук.-практ. конф. молодих вчених (м. Львів, 3–4 грудня 2015 р.). Львів, 2015. Т. 17, № 4. С. 20–21.

28. Гавриліна О.Г., Еверт В.В. Імуногістохімічні аспекти діагностики цирковірусної інфекції свиней. *Прикладні аспекти морфології*: зб. матер. наук.-практ. конф. (м. Тернопіль, 20–21 жовтня 2016 р.). Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 30–31. (Здобувачем виконано імуногістохімічні дослідження, підготовлено тези до друку).

29. Еверт В.В. Особливості патоморфології лімфатичних вузлів свиней за клінічно вираженої цирковірусної інфекції II типу. *Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень*: зб. матер. науково-практичної конференції (м. Тернопіль, 10–11 жовтня 2019 р.). Тернопіль: ТНМУ, 2019. С. 66–68.

## АНОТАЦІЯ

**Еверт В.В. Морфофункціональний статус органів кровотворення та імунного захисту поросят за різних форм перебігу цирковірусної інфекції II типу.** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин. - Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Львів, 2020.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню наукової проблеми визначення загальних змін в організмі свиней за спонтанної цирковірусної інфекції II типу та морфофункціонального статусу органів кровотворення та імунного захисту поросят на різних рівнях їх структурної ієрархічної організації за різних форм перебігу цієї інфекції.

Встановлено, що чисельні клініко-морфологічні форми цирковірусної інфекції свиней II типу є не окремими нозологічними одиницями, а лише проявами різного ступеня глибини та масштабів ураження збудником органів імунної системи. Одночасне ураження збудником центральних органів імунної системи, периферичних анатомічно оформлених лімфоїдних органів, лімфоїдних структур слизових оболонок (лімфоепітеліальні лімфоїдні вузлики) та лімфоїдних структур внутрішнього середовища організму (периваскулярні лімфоїдні вузлики) клініко-морфологічно визначається як синдром мультисистемного виснаження, (генералізована форма – синдром мультисистемного виснаження), ураження лімфатичних структур слизових оболонок та регіонарних лімфатичних вузлів – повний первинний інфекційний комплекс, ураження винятково лімфоїдних структур слизових оболонок – первинний афект. Доведено, що за латентної та субклінічної форм цирковірусної інфекції II типу, патоморфологічні зміни в органах кровотворення та імунного захисту виявляються переважно на клітинному рівні та пов'язані з персистенцією вірусу в макрофагах та лімфоцитах, а також з формуванням незначних осередків проліферативного запалення в периферичних лімфоїдних органах. За клінічно вираженої інфекції (синдром мультисистемного виснаження) зміни в органах кровотворення та імунного захисту мають чіткі патоморфологічні прояви з вираженою структурою та послідовністю їх розвитку. На першому етапі - формування реакції активного специфічного імунітету, на другому – розвиток запальних та імунопатологічних змін. У тимусі та кістковому мозку поступово формуються ознаки функціонального виснаження та дегенерації паренхіми, в периферичних лімфоїдних органах – реактивна гіперплазія паренхіми (Т- та В-залежних зон), серозне або серозно-гнійне запалення, проліферативне (гранульоматозне) запалення. З'ясовано, що проліферативне (гранульоматозне) запалення в периферичних лімфоїдних органах свиней за синдрому мультисистемного виснаження має низку специфічних рис: ділянки некрозу тканин у центрі гранульом відсутні; макрофаги та епітеліоїдні клітини переважають в центральних зонах гранульом, полікаріоцити – в периферичних, лімфоцити в гранульомах майже не виявляються. Встановлено, що реактивні, запальні та імунопатологічні зміни в паренхімі лімфатичних вузлів свиней за синдрому

мультисистемного виснаження більш виражені в центральних або т. зв. «глибоких» ділянках лімфоїдної тканини, що пов'язано з характером внутрішньовузлової лімфодинаміки (наявність внутрішньотрабекулярних лімфатичних колекторів).

**Ключові слова:** свині; латентна, субклінічна, клінічно виражена цирковірусна інфекція II типу; патоморфологія; центральні та периферичні органи кровотворення та імунного захисту; реактивні та запальні, імунопатологічні морфологічні зміни.

### АННОТАЦІЯ

**Эвэрт В.В. Морфофункціональний статус органів кровотворення і імунної захисти поросят при різних формах течення цирковірусної інфекції II типу.** – На правах рукописи.

Дисертація на соискание ученої ступені доктора ветеринарних наук по спеціальності 16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія живих тварин. – Львівський національний університет ветеринарної медицини і біотехнологій імені С.З. Гжицького, Львів, 2020.

Дисертація посвячена рішенняу наукової проблеми определения общих закономірностей патоморфологічних і імунопатологічних змін в організмі свиней при спонтанній цирковірусній інфекції II типу і морфофункціонального статусу органів кровотворення і імунної захисти поросят на різних рівнях їх структурної ієрархічної організації при різних формах течення цієї інфекції.

В результаті комплексного аналізу патоморфологічних і імунопатологічних змін в центральних і периферических органах імунної системи свиней при різних формах течення цирковірусної інфекції II типу вперше доведено, що численні клініко-морфологічні різновидності цієї хвороби не являються окремими нозологічними одиницями, а лише проявленнями різної ступені глибини і масштабів ураження цирковірусом органів імунної системи. Одночасне ураження возбудителем центральних органів імунної системи, периферических анатомічно оформлених лімфоїдних органів, лімфоїдних структур слизових оболонок (лімфоєпітеліальні вузлики) і лімфоїдних структур внутрішньої середовища організму (периваскулярні лімфоїдні вузлики) клініко-морфологічно визначається як синдром мультисистемного виснаження, що відповідає генералізованій формі цирковірусної інфекції.

Преобладаючі локальні ураження возбудителем лімфоєпітеліальних вузлів слизових оболонок органів дихання і травлення характеризуються як органоспецифічні респіраторні і кишечні цирковірусні асоційовані синдроми, що являються морфологічним проявленням первинного афекта (первичного осередку цирковірусної інфекції). Виникнення на фоні генералізованої або локалізованої цирковірусної інфекції імунопатологічної реакції гіперчутливості (гіперчутливості III типу), з ураженням імунними комплексами кровоносних судів нирок і шкіри визначається як цирковірусний обумовлений шкірно-нефротический синдром. Розвиток в уражених вірусом лімфоїдних органах і структурах

пролиферативного (гранулематозного) воспаления относится к иммунопатологической реакции гиперчувствительности IV типа.

Подробно описан морфофункциональный статус органов иммунной системы у свиней при различных формах течения цирковирусной инфекции. Установлено, что у животных с латентной инфекцией патоморфологические изменения в органах иммунной системы отсутствуют, а антиген возбудителя локализуется преимущественно в мононуклеарных фагоцитах. У животных с субклинической цирковирусной инфекцией II типа проявляются признаки формирования неполного первичного инфекционного комплекса с поражением отдельных лимфатических узлов, у животных с клинически выраженной цирковирусной инфекцией II типа – патоморфологические признаки различных стадий развития инфекции локального или генерализованного характера (синдром мультисистемного истощения).

Установлено, что морфологические изменения в органах иммунной системы свиней с клинически выраженной цирковирусной инфекцией имеют четко выраженную стадийность и последовательность. На первом этапе эти изменения являются проявлением формирования в организме животных адаптивного специфического иммунитета, на втором – развитием воспалительных и иммунопатологических реакций.

Определены закономерности патоморфологических изменений в центральных и периферических органах иммунной системы с клинически выраженной цирковирусной инфекцией. В тимусе и костном мозге преобладают морфологические признаки функционального истощения и дегенерации паренхимы, в периферических лимфоидных органах – умеренная реактивная гиперплазия паренхимы, признаки серозного или серозно-гнойного и продуктивного гранулематозного воспаления.

Установлено, что дегенеративные изменения в костном мозге на последних этапах развития клинически выраженной цирковирусной инфекции II типа характеризуются кистозным перерождением стромы с очаговой пролиферацией ретикулярных клеток и формированием кистозообразных образований в результате апоптоза и некроза клеток в центральных зонах пролифератов.

Выяснено, что продуктивное воспаление в периферических лимфоидных органах свиней с клинически выраженной цирковирусной инфекцией имеет ряд специфических особенностей, обусловленных тропизмом вируса к макрофагам и лимфоцитам, а именно – отсутствие в лимфоидной паренхиме типичных гранулем в связи с толерантностью возбудителя к стромальным ретикулярным клеткам. В результате участки некроза тканей в центре гранулем не обнаруживаются, макрофаги и эпителиоидные клетки преобладают в центральных участках гранулем, а поликариоциты – в периферических. Лимфоциты в гранулемах обнаруживаются в незначительном количестве.

Доказано, что реактивные и воспалительные изменения в паренхиме лимфатических узлов свиней с клинически выраженной цирковирусной инфекцией вначале развиваются в ее центральных или глубоких участках. Эта особенность обусловлена характером лимфоснабжения этих органов, когда большая часть афферентной лимфы сначала поступает в глубокие слои паренхимы вследствие

наличия в лимфатических узлах свиньи домашней трабекулярных лимфатических коллекторов и системы лимфатических «шунтов», с помощью которых большая часть лимфы из коллекторов эвакуируется именно в центральные участки лимфоидной паренхимы узлов.

Практическое значение полученных результатов заключается в определении ряда универсальных патогномических морфологических признаков цирковирусной инфекции II типа с целью их использования в комплексной диагностике этой болезни.

**Ключевые слова:** свиньи; латентная, субклиническая, клинически выраженная цирковирусная инфекция II типа; патоморфология; центральные и периферические органы кроветворения и иммунной защиты; реактивные и воспалительные, иммунопатологические морфологические изменения.

### ANNOTATION

(correspond to Ukrainian language annotation)

**Evert Victor. Morphofunctional status of blood development and immune defense organs of piglets during different types of PCV2 infection** – on behalf of manuscript. Dissertation dedicated for the gain of Doctor of Veterinary Medicine grade under specialty 16.00.02 – pathology, oncology and animal morphology. – Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lviv, 2020.

Dissertation dedicated to investigation of scientific problem of defining general rules of pathomorphological and immunopathological changes in swine organism under the spontaneous PCV2 infection, and morphofunctional status in blood production and immune defense organs of piglets on different levels of its structural hierarchical organization under the different forms of the disease venue.

As the result of complex analysis of pathomorphological and immunopathological changes in central and peripheral organs of pig's immune system under different PCV2 infection pathogenesis, we prove that multiple clinicomorphological varieties of this disease wasn't separate nosological units, but different appearance of the same disease with different "depth" and size of PCV2 affect of immune system organs. Affection of the central immune system organs and peripheral complete anatomical lymphoid organs, lymphoid structures of the mucosa (lymphoepithelial nodes) and lymphoid structures of internal body space (perivascular lymphoid nodes) clinicomorphologically defining as PMWS syndrome, which corresponds to generalizing of PCV2 infection.

Prevalent local lesion of lymphoepithelial nodes of mucosa of pneumatic and gastrointestinal tracts, is characterized as organ specific respiratory and gastrointestinal PCV-related syndromes, which appears as morphological appearance of primary affect (primary center of PCV2 infection). Development of the generalized or local hypersensitivity reaction (3<sup>rd</sup> type) with affection of the kidney and skin blood vessels by immune complexes, defining as PCV2 related PDNS. Development of the proliferative (granulomatosis) inflammation in affected by virus lymphoid organs, must be related towards immunopathological reaction of hyperreactivity of IV type.

Detailed description of morphofunctional status of immune system organs in swine under different forms of PCV2 infection was given in this dissertation. It was established that pigs with latent infection the pathomorphological changes in organs of immune

system was absent, and infection antigen was localized mainly in mononuclear phagocytes. Pigs with subclinical type of PCV2 infection shows the signs of uncomplete primary infection complex development with affection of separate lymph nodes. Pigs, with clinical PCV2 infection – pathomorphological signs of different stages of infection development have local or generalized character (PMWS).

It was found, that morphological changes in immune system organs of pigs with clinical form of PCV2 has its clear stages and sequence. At the first stage these changes show itself as adaptive specific immunity forming process, on second stage – development of inflammatory and immunopathological reactions.

It was proved specific consistency of pathomorphological changes in central and peripheral organs of the immune system in pigs with clinical PCV2 infection. In thymus and red bone marrow there is the domination of morphological signs of functional starvation and parenchyma degradation, in peripheral lymphoid organs – middle level of reactive parenchyma hyperplasia, signs of serosal or serosal-purulent and productive granulomatous inflammation.

It was found, that degenerative changes in red bone marrow at the last stages of clinically appeared PCV2 infection is characterizes cystic reshaping of the stroma with regional proliferation of the reticular cells and formation of the cysts as the result of apoptosis and cell necrosis in central zones of the proliferates.

It was established, that productive inflammation in peripheral lymphoid organs of the pigs with clinically shown PCV2 infection has some specific features, which dedicated to tropism of the virus to macrophages and lymphocytes, as well as absence of typical granuloma in lymphoid parenchyma, which can be explained by “toleration” of the virus to stromal reticular cells. As the result areas of the tissue necrosis in center of the granuloma is not present, macrophages and epithelioid cell are dominate in the center of the granuloma, and polycariocytes – in peripheral part of it. Lymphocytes in granuloma can be found in very rare cases and quantities.

It was proven, that reactive and inflammatory changes in parenchyma of lymph nodes of pigs with clinical PCV2 infection at the beginning is developing either in central parts or deep regions. This feature can be explained by character of lymph flow at these organs, when majority of afferent lymph first goes into deep layers of parenchyma due to the presence of intratrabecular collectors and system of lymphatic joints of domestic pig. Due to this majority of lymph from collectors evacuating through central parts of lymphoid nodes parenchyma.

Practical meaning of obtained results lays in defining of chain of universal pathognomonic morphological features of PCV2 infection with purpose of its use in complex diagnostic of this infection.

**Key words:** pigs, latent, subclinical, clinically manifested PCV2 infection, pathomorphology, central and peripheral organs of hematopoiesis and immune defense, reactive and inflammatory, immunopathological morphological changes.



Підписано до друку 18.03.2020  
Формат 60x84/16. Папір офсетний.  
Друк цифровий. Умовн. друк. арк. 1,8  
Наклад 100 прим. Зам. № 48

**Друк: ТзОВ «Растр-7»**  
79005, м. Львів, вул. Кн. Романа, 9/1  
тел./факс: (032) 235 52 05, e-mail: rastr.sim@gmail.com  
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи  
ЛВ № 22 від 19.11.2002 р.