

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

ГУРАЛЬСЬКА СВІТЛАНА ВАСИЛІВНА

УДК 636.52/.58:619:616.223-002

**ІНФЕКЦІЙНИЙ БРОНХІТ КУРЕЙ (ПАТОМОРФОЛОГІЯ
ТА ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСОБІВ ПРОФІЛАКТИКИ)**

16.00.02 – патологія, онкологія і морфологія тварин

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора ветеринарних наук

Львів – 2017

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Житомирському національному агроекологічному університеті Міністерства освіти і науки України

Науковий консультант: доктор ветеринарних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
Горальський Леонід Петрович,
Житомирський національний агроекологічний
університет, завідувач кафедри анатомії і гістології,
директор Науково-інноваційного інституту
тваринництва та ветеринарії

Офіційні опоненти: доктор ветеринарних наук, професор
Кісера Ярослав Васильович,
Львівський національний університет ветеринарної
медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького,
професор кафедри епізоотології

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

доктор ветеринарних наук, професор
Скрипка Марина Вікторівна,
Одеський державний аграрний університет,
професор кафедри нормальної і патологічної
анатомії та патофізіології

Захист відбудеться «03» листопада 2017 р. о 10⁰⁰ 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 у бібліотеці Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 50

Автореферат розісланий «___» _____ 2017 р.

**Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради**

О. Б. Прийма

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Промислове птахівництво до останнього часу є найбільш динамічною галуззю агропромислового комплексу нашої країни, яке в короткі терміни зуміло збільшити об'єм виробництва і забезпечити населення країни високоякісною м'ясною та яечною продукцією. Однак екстенсифікація цієї галузі зробила виробництво яєць та м'яса птиці неконкурентноспроможним на ринках збуту сільськогосподарської продукції. Різко підвищилися витрати на виробництво, а недостатність в Україні племінних господарств примушує здійснювати завезення інкубаційних яєць та птиці з інших країн. До того ж, значний відсоток загибелі птиці під час вирощування та утримання негативно впливає на рентабельність галузі (Безрукавая І. Ю., 2001; Березовський А. В. зі співавт., 2013; Бушуєва І. В. зі співавт., 2014; Жаков М. С. зі співавт., 2001).

У період відсутності резистентних кросів птиці та завозу гібридного молодняка в Україну з'явилося багато вірусних захворювань, які раніше не реєстрували на нашій території: хвороба Гамборо, інфекційний бронхіт, реовірусна інфекція, вірусний енцефаломієліт птиці тощо. Значні економічні збитки промисловим і фермерським птахогосподарствам спричиняє інфекційний бронхіт птиці, який реєструють в усіх країнах світу. Це пов'язано зі зниженням ефективної відгодівлі бройлерів і яєчної продуктивності, погіршенням якості яєць, вимушеною вибраковкою та загибеллю, підвищенням сприйнятливості птиці до інших хвороб. Водночас висока вірулентність вірусу, різноманітність серотипів, швидка мінливість, чутливість популяції та інші чинники призводять до того, що інфекційний бронхіт курей (ІБК) залишається надалі серйозною проблемою для птахівництва. Одним із напрямів профілактики щодо інфекції є своєчасне діагностування та вакцинопрофілактика. Актуальною проблемою у птахівництві залишається вибір оптимальних програм імунізації птиці щодо інфекційного бронхіту курей (Громов І. Н. зі співавт., 2011; Джаїлиди Г. А. зі співавт., 2014; Каспарьянц С. А. зі співавт., 2012; Корнева Ж. Б., 2001; Овчинникова Е. В. зі співавт., 2007; Seyfi Abad Shapouri M. R. et al., 2003; Dolz R. et al., 2006; Bijlenga G. et al., 2004; Beato M. S. et al., 2005; Shimazaki Y. et al., 2009; Ignjatovic J. et al., 2002; Grgic H., et al., 2008; Bande F. et al., 2015; Wit J. J. et al., 2010; Ying Sh. Zh., 2013). Проте, зважаючи на широке використання вакцин проти інфекційного бронхіту (ІБ), контроль захворювання ускладнюється через циркуляцію епізоотичних штамів вірусу ІБ, які антигенно відрізняються від вакцинних штамів, оскільки перехресний захист між ними відсутній (Cavanagh D., 2003; Bijlenga G. et al., 2004; Gelb Jr. J. et al., 1998; Shimazaki Y. et al., 2009; Otsuki K., Huggins M., Cook J. K., 1990; Cong F. et al., 2013; Xiaoli L. et al., 2013).

У сучасних умовах вирощування промислова птиця піддається впливу різноманітних стресових чинників, зумовлених не тільки умовами годівлі, утримання, а й впливу вакцинних препаратів, що підтримують її імунний статус (Громов І. Н., 2010; Жаков М. С. зі співавт., 2001; Луговская Н. Н. зі співавт., 2000; Лукашик Г. В., 2008; Jia Z. et al., 2014; Cavanagh D., 2003; Bijlenga G. et al., 2004; Zhang J., 2014). У зв'язку з цим важливе значення має дослідження оцінки

морфофункціонального стану органів, які безпосередньо відповідають за імунологічну реактивність організму птахів (Гудзь Н. В., Кулагина О. Г., 2011). У практичному аспекті така оцінка стану імунної системи ґрунтується на кількісній характеристиці імунокomпетентних клітин й антитіл і є основою контролю ефективності та безпеки вакцин, імунокорегувальних препаратів, які використовуються у ветеринарії (Бирман Б. Я. зі співавт., 2008; Федоров Ю. Н. зі співавт., 2005; Chen B. Y. et al., 1996).

Проте, незважаючи на велику кількість досліджень, в яких досить детально висвітлені питання етіології, епізоотології, профілактики щодо інфекційного бронхіту курей (Борисов А., Фролов С., Хлыбова Т., 2001; Голод Я. Р., 1995; Жаков М. С. зі співавт., 2001; Овчинникова Е. В., 2009; Arshad S., Al-Salihi K., Noordin M., 2002; Bezuidenhout A. et al., 2011; Chousalkar K. K. et al., 2010; Cavanagh D., Gelb J., 2008; Cook J. K. A. et al., 2012; Abro S. H. et al., 2012; Cavanagh D. et al., 2003; Wit (Sjaak) J. J. et al., 2010), характеристиці гістологічних змін за ІБК приділяють недостатньо уваги. Багато робіт носять лише описовий характер і не висвітлюють усіх уражень за цієї хвороби, що ускладнює сприйняття ІБК як єдиного патологічного процесу. До того ж, характер гістологічних змін знаходиться в тісній залежності від гостроти та стадії патологічного процесу, що, вочевидь, і пояснює протиріччя в характеристиці змін, які зустрічаються у різних авторів (Аросланкіна М. И., 2009; Громов И. Н., 2010; Громов И. Н., Герман С. П., 2013; М. С. Жаков зі співавт., 2001; Куриленко А. Н., 1980; Прудников В. С., 2000; Стрельников А. П., 1990; Bezuidenhout A. et al., 2011; Chousalkar K. K. et al., 2007; Chen B. Y. et al., 1996; Raj G. D., Jones R. C., 1997). Тому дослідження патоморфології та обґрунтування засобів профілактики інфекційного бронхіту є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконували впродовж 2009–2016 рр. згідно з планом науково-дослідної роботи, вона є фрагментом комплексних наукових програм кафедри анатомії і гістології факультету ветеринарної медицини Житомирського національного агроекологічного університету: «Вплив несприятливих чинників зовнішнього середовища на організм тварин». Авторка виконувала розділ «Морфологія та гістохімія організму тварин при заразних та незаразних захворюваннях» (номер державної реєстрації – 0109U007544, 2009–2011 рр.); «Розвиток, морфологія та гістохімія органів тварин у нормі та при патології» (номер державної реєстрації – 0113U000900, 2013–2018 рр.).

Мета і завдання досліджень. Метою дисертаційної роботи є дослідження морфофункціонального стану органів курей за інфекційного бронхіту та вакцинопрофілактики.

Для досягнення мети необхідно було вирішити наступні **завдання**:

- визначити морфологічні показники тимуса, клоакальної сумки, селезінки, сліпокишкових мигдаликів, гардерової залози, легень, нирок, печінки курей кросу Хайсекс браун 8, 20, 40, 90 та 110-добового віку, адаптованих до умов СТОВ «Старосолотвинська птахофабрика» с. Старий Солотвин Бердичівського району Житомирської області;

- визначити вміст, розміщення і кількісне співвідношення субпопуляцій CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, CD20⁺-лімфоцитів у органах кровотворення та імуногенезу клінічно здорових курей різного віку;
- з'ясувати патоморфологічні зміни тимуса, клоакальної сумки, селезінки, сліпокишкових мигдаликів, гардерової залози, легень, нирок, печінки курей за респіраторної і нефрозо-нефритної форми інфекційного бронхіту;
- визначити вміст, розміщення і кількісне співвідношення субпопуляцій CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, CD20⁺-лімфоцитів в органах кровотворення та імуногенезу курей за респіраторної та нефрозо-нефритної форми інфекційного бронхіту;
- з'ясувати вплив вакцин (живої ліофілізованої вакцини штаму Н-120 серотипу Массачусетс, живої вакцини проти ІБК штаму 4-91 та інактивованої вакцини ІБ/ХН/СЗН) на мікроскопічну будову і морфометричні показники тимуса, клоакальної сумки, селезінки, сліпокишкових мигдаликів, гардерової залози, легень, нирок, печінки курей 8, 20, 40, 90 та 110-добового віку;
- з'ясувати вплив імуностимулятора Авесстим™ на мікроскопічну будову і морфометричні показники тимуса, клоакальної сумки, селезінки, сліпокишкових мигдаликів, гардерової залози, легень, нирок, печінки курей різного віку за вакцинації (живою ліофілізованою вакциною штаму Н-120 серотипу Массачусетс, живою вакциною проти ІБК штаму 4-91 та інактивованою вакциною ІБ/ХН/СЗН);
- визначити вміст, розміщення і кількісне співвідношення субпопуляцій CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, CD20⁺-лімфоцитів у органах кровотворення та імуногенезу курей різного віку за вакцинації (живою ліофілізованою вакциною штаму Н-120 серотипу Массачусетс, живою вакциною проти ІБК штаму 4-91 та інактивованою вакциною ІБ/ХН/СЗН).

Об'єкт досліджень – встановлення морфологічних змін в органах курей за інфекційного бронхіту та за вакцинопрофілактики.

Предмет досліджень – морфофункціональний стан органів курей за респіраторної і нефрозо-нефритної форм інфекційного бронхіту та за вакцинопрофілактики.

Методи дослідження: клініко-анатомічні (визначення загального клінічного стану тварин); зоотехнічні (визначення маси тіла та органів тварин); гістологічні (оцінка мікроскопічної будови органів тварин на клітинному і тканинному рівнях); гістохімічні (виявлення локалізації нуклеїнових кислот у гістоструктурах органів); імуногістохімічні (визначення поверхневих маркерів лімфоцитів CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, CD20⁺); морфометричні (встановлення абсолютних (об'ємно-вагових) і відносних показників органів та їх структурно-функціональних одиниць); статистичні (обробка цифрових даних з метою визначення вірогідності змін показників).

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі показано морфологічні, гістохімічні, імуногістохімічні та морфометричні дослідження органів курей за інфекційного бронхіту і вакцинопрофілактики проти інфекційного бронхіту. Доповнено відомості про структуру, закономірності росту й розвитку центральних і периферичних органів кровотворення та імуногенезу

курей, які свідчать про незавершеність їхнього морфогенезу на ранніх етапах постнатального періоду онтогенезу, що необхідно враховувати під час складання програм вакцинопрофілактики. Дано оцінку мікроструктурних змін органів курей за інфекційного бронхіту.

На підставі здійснених досліджень отримано нові дані про склад кластерів диференціації в органах кровотворення та імуногенезу курей різного віку, зміни їх у разі захворювання та імунізації проти інфекційного бронхіту. Встановлено показники кількості та особливості характеру маркованих клітин у нормі. Визначено потенціальні можливості імуногістохімії як чутливого й точного методу оцінки стану клітинного (Т-хелперних лімфоцитів, Т-цитотоксичних клітин і нормальних Т-кілерів) та гуморального (В-лімфоцитів) імунітетів. Отримано нові дані про особливості імунітету за інфекційного бронхіту і вакцинації, показана провідна роль органів кровотворення та імуногенезу у процесі формування імунітету за інфекційного бронхіту.

Запропоновано спосіб корекції імунного статусу курей за допомогою імуномодулятора Авесстим™. Доведено, що такий препарат підвищує поствакцинальну протівірусну імунну відповідь і як імуностимулятор сприяє формуванню активації імунітету проти ІБК, не спричиняючи при цьому побічних ефектів, а навпаки стимулює розвиток імунних утворень, що проявляється збільшенням кількості й розмірів лімфоїдних вузликів у периферичних органах імуногенезу, сповільнює процеси інволюції клоакальної сумки, впливає на зростання площі кіркової речовини в тимусі, кількості тимусних тілець у часточці та індексу кори.

Наукова новизна отриманих результатів підтверджена патентом на корисну модель № 83269 від 27.08.2013. «Спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот» та патентом на винахід № 105982 від 10.07.2014. «Спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот».

Практичне значення одержаних результатів. Результати досліджень можуть бути використані у клінічній практиці для діагностики інфекційного бронхіту.

Для стимуляції розвитку імунних утворень в органах кровотворення та імунного захисту курей, з метою корекції профілактики інфекційного бронхіту, рекомендуємо застосовувати імуномодулятор Авесстим™ щойно вилупленим курчатам в умовах інкубаторію – аерозольно, потім шляхом випоювання із розрахунку 10 мл на 1 літр води (1:1000), за дві доби до та дві доби після вакцинації.

Результати досліджень увійшли до науково-методичних рекомендацій: «Особливості відбору, транспортування і зберігання патологічного матеріалу для різних видів досліджень», затверджених науково-методичною радою Державного комітету ветеринарної медицини України (протокол № 1 від 23 грудня 2010 р.), «Вакцинопрофілактика інфекційного бронхіту курей», затверджених Науково-технічною радою «Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта» (протокол № 3 від 23 березня 2017 р.), «Патоморфологічна діагностика інфекційного бронхіту

курей», затверджених Науково-технічною радою Науково-методичного центру інформаційно-аналітичного забезпечення діяльності вищих навчальних закладів «Агроосвіта» (протокол № 3 від 23 березня 2017 р.).

Матеріали дисертаційної роботи використані під час написання: монографії «Морфологія та імуногістохімія органів кровотворення та імуногенезу курей за інфекційного бронхіту та при вакцинації», посібника «Анатомія свійських птахів» з грифом Міністерства освіти і науки України (№ 1/11-363 від 19 січня 2011 р.) як навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів, які навчаються за спеціальністю «Ветеринарна медицина», посібника «Анатомія свійських птахів» (друге видання) з грифом Міністерства освіти і науки України (№ 1/11-363 від 19 січня 2011 р.) як навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів, які навчаються за спеціальністю «Ветеринарна медицина».

Отримані результати досліджень застосовують у навчальному процесі кафедр вищих навчальних закладів: нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького; патологічної анатомії та інфекційної патології Полтавської державної аграрної академії; анатомії, нормальної та патологічної фізіології Сумського національного аграрного університету; патологічної анатомії Харківської державної зооветеринарної академії; нормальної і патологічної анатомії та патофізіології Одеського державного аграрного університету; мікробіології, фармакології та епізоотології Житомирського національного агроекологічного університету; патологічної анатомії і гістології Вітебської ордену «Знак Почёта» державної академії ветеринарної медицини (Республіка Білорусь); анатомії, патологічної анатомії і гістології Казанської державної академії ветеринарної медицини імені М. Е. Баумана (Російська Федерація).

Отримані результати досліджень використовуються у виробничому процесі в умовах птахофабрики «Надія» с. Зарубинці Андрушівського району Житомирської області та філії «Солотвинська птахофабрика» ТОВ «Зелений вал» с. Старий Солотвин Бердичівського району Житомирської області.

Особистий внесок здобувача. Здобувач особисто здійснила пошук і аналіз літературних джерел за темою дисертаційної роботи, провела патентний пошук з тематики досліджень, виконала запланований обсяг експериментальних досліджень, здійснила статистичну обробку цифрових показників, оформила ілюстративні матеріали та написала дисертацію; аналіз одержаних результатів і формулювання висновків проведено спільно з науковим консультантом.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи апробовані в доповідях та обговорені на: міжнародній науково-практичній конференції «Інноваційність розвитку сучасного аграрного виробництва» (Львів, 2009); VIII міжнародній науковій конференції «Морфологія ХХІ століття» (Київ, 2010); V з'їзді анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (науковий конгрес «IV міжнародні Пироговські читання», присвячений 200-річчю М.І. Пирогова) (Вінниця, 2010); міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 50-річчю заснування інституту епізоотології УАН

«Епізоотологічний моніторинг та системи ліквідації хвороб тварин» (Рівне, 2010); всеукраїнській науково-практичній конференції патоморфологів «Сучасні науково-практичні досягнення у ветеринарній патоморфології» (Полтава, 2011); ІХ міжнародній науковій конференції «Морфологія на межі тисячоліть» (Київ, 2011); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми сучасної морфології», присвяченій 75-ій річниці з дня народження професора Миколи Сергійовича Скрипнікова (Полтава, 2011); VI науково-практичній конференції всеукраїнського товариства ветеринарних патологів (з міжнародною участю) «Розвиток досліджень і впроваджень у ветеринарній патології» (Київ, 2012); X міжнародній науковій конференції морфологів України «Морфологія – стан і перспективи розвитку у XXI столітті» (Луганськ, 2012); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні екологічні аспекти ветеринарної медицини», присвяченій 25-ій річниці створення факультету ветеринарної медицини (Житомир, 2012); II міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми живлення тварин, технології кормів та шляхи їх вирішення» (Житомир, 2012); міжнародній науково-практичній конференції «Інноваційність розвитку сучасного аграрного виробництва» (Львів, 2013); міжнародній науково-практичній конференції «Стан і актуальні проблеми відтворення тварин», присвяченій 25-ій річниці створення кафедри акушерства і хірургії ЖНАЕУ (Житомир, 2014); першій науково-практичній конференції «Молоді вчені у вирішенні проблем тваринництва та ветеринарії» (Житомир, 2014); XII міжнародній науковій конференції «Морфологія на межі тисячоліть», присвяченій 95-ій річниці кафедри анатомії тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка (Київ, 2015), другій науково-практичній конференції «Молоді вчені у вирішенні проблем тваринництва та ветеринарії» (Житомир, 2015); V міжнародній науково-практичній конференції «Наука в современном мире» (Київ, 2016), міжнародній науково-практичній конференції «Наука в епоху дисбалансів» (Київ, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2016); міжнародній науково-практичній конференції «Інновації у ветеринарній медицині та аграрному виробництві» (Львів, 2016); II міжнародній науково-практичній конференції «Модернізація національної системи управління державним розвитком: виклики і перспективи» (Тернопіль, 2016).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 44 наукові праці, у тому числі: 1 монографія, 21 стаття у наукових фахових виданнях (із них 11 одноосібних, 4 статті – у наукових фахових виданнях, включених до міжнародних наукометричних баз даних), 2 посібники, 2 патенти, 3 методичні рекомендації та 15 наукових праць у збірниках матеріалів і тез конференцій (із них 11 одноосібних).

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 434 сторінках комп'ютерного тексту, містить вступ, огляд літератури, вибір напрямків досліджень, матеріал і методи виконання роботи, результати досліджень, аналіз і узагальнення результатів досліджень, висновки, пропозиції виробництву, список використаних джерел і додатки. Матеріали дисертаційної

роботи проілюстровані 299 рисунками і 40 таблицями. Список використаної літератури містить 574 посилань, з яких 323 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Вибір напрямів досліджень, матеріали і методи досліджень. Дисертаційна робота виконана на кафедрі анатомії і гістології факультету ветеринарної медицини Житомирського національного агроекологічного університету впродовж 2009–2016 років. У ході її виконання дотримувалися «Загальних етичних принципів експериментів над тваринами» (Україна, 2001), що узгоджується з Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21. 02. 2006 року № 3447 та Положенням «Європейської конвенції про захист тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1987).

Для досліду відібрали курей віком 1 доба, вирощених в умовах СТОВ «Старосолотвинська птахофабрика» Бердичівського району Житомирської області, розділених за принципом аналогів на три групи по 70 голів у кожній. Перша група – контрольна, клінічно здорові кури; друга – дослідна, курей якої вакцинували згідно із плану щеплень ремонтного молодняку живою ліофілізованою вакциною штаму Н-120 серотипу Массачусетс (фірми «Інтервет», Нідерланди) (два рази на першу та 30-у добу), живою ліофілізованою вакциною штаму 4-91 (фірми «Інтервет», Нідерланди) (два рази на 13 і 80-у добу) та інактивованою вакциною ІБ/ХН/СЗН (фірми «Інтервет», Нідерланди) (один раз на 100-у добу); третя група – дослідна, курей якої вакцинували згідно з розробленим планом щеплень з додаванням імуномодулятора Авесстим[™] у період виводу в умовах інкубаторію аерозольно, а потім випоювали його із розрахунку 10 мл на 1 літр води (1:1000), за дві доби до та дві доби після вакцинації.

Для контролю інтактними залишили 70 курей, яких утримували окремо. Патоморфологічні дослідження інфекційного бронхіту курей проводили на спонтанно хворих курах (10 голів 20-добового віку за респіраторної, 10 голів 40-добового віку за нефрозо-нефритної та 10 голів 90-добового віку за нефрозо-нефритної форм ІБК).

Діагноз на інфекційний бронхіт курей встановлювали комплексно, з урахуванням епізоотологічних і клінічних даних, патолого-анатомічних змін та результатів лабораторної діагностики (ІФА). Лабораторне дослідження проводилось у відділі з діагностики хвороб птиці Державного науково-дослідного інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (м. Бровари, Київської обл.).

Анатомічний рівень дослідження складав: забій і знекровлення птиці; розтин грудочеревної порожнини; препарування органів із наступним вилученням із порожнини. Забій контрольних та вакцинованих курей 8, 20, 40, 90 та 110-добового віку здійснювали методом гострого знекровлення після ефірного наркозу.

Шматочки матеріалу фіксували в 10–12 % водному розчині нейтрального формаліну та рідині Карнуа з подальшою заливкою матеріалу в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 5–8 мкм виготовляли на санному мікротомі МС–2.

Для вивчення мікроскопічної будови тимуса, клоакальної сумки, селезінки, гардерової залози, сліпокишкових мигдаликів, легень, нирок, печінки, стану їх структур, морфології клітин і здійснення морфометричного дослідження застосовували фарбування зрізів гематоксиліном та еозином, за методами Ван-Гізона та Унна-Тенцера (Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І., 2011).

Імуногістохімічні дослідження здійснювали на базі патоморфологічної лабораторії ТОВ «CSD HEALTH CARE», м. Київ, Україна. В імуногістохімічних дослідженнях $CD4^+$ (Т-хелпери), $CD8^+$ (Т-цитотоксичні клітини і нормальні Т-кілери), $CD45RA^+$ (наївні Т-хелпери, В-лімфоцити та моноцити), $CD20^+$ (зрілі В-лімфоцити) маркували в парафінових зрізах з використанням моноклональних антитіл та системи візуалізації (всі реагенти фірми «ДАКО», Данія).

Вивчення імуногістохімічних препаратів проводили на мікроскопі Olympus AX–70 (Японія) з цифровою відеокамерою Olympus DP–50, з'єднаною з персональним комп'ютером. При цьому визначали вміст, розміщення і кількість субпопуляцій лімфоцитів (на умовну одиницю площі ок. 10, об. 40). Кількісні та якісні показники експресії маркерів вивчали на 10 випадково обраних полях зору мікроскопа гістологічних зрізів за збільшення $\times 400$, $\times 600$, $\times 800$ та $\times 1000$. Динаміку імунітету вивчали на субпопуляційному рівні шляхом визначення кількості чотирьох кластерів імунокомпетентних клітин: $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$ та $CD20^+$ в тимусі, клоакальній сумці, селезінці, сліпокишкових мигдаликах, гардеровій залозі.

Назви морфологічних структур органів курей подані у відповідності з Міжнародною ветеринарною анатомічною номенклатурою птахів (Julian J. Baumel, Anthony S. King, James E. Breazile et al., 1993) і термінологічним словником анатомії птахів (Костюк В. К., Вакулик І. І., Балалаєва О. Ю., Щипакин М. В., 2017).

Морфометричні методи використовували для одержання об'єктивних даних структурної організації досліджуваних органів у курей. Дослідження проводили за допомогою світлових мікроскопів МБС–10, Micros МС–50, використовуючи окулярні сітки (квадратно-сіткові вставки) та окуляр-мікрометр, згідно з рекомендаціями, викладеними у посібниках (Авганділов Г. Г., 1990; Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І., 2011; Ташке К., 1980).

Мікрофотографування гістологічних препаратів здійснювали за допомогою відеокамери САМ V200, вмонтованої у мікроскоп Micros МС–50 і підключеної до персонального комп'ютера.

Цифрові дані морфометричних досліджень обробляли за допомогою варіаційно-статистичних методів на персональному комп'ютері з використанням програми Statistica 5.0 для Windows XP. При цьому визначали середню арифметичну (M), статистичну помилку середньої арифметичної (m), середнє квадратичне відхилення (δ), показник суттєвої різниці між середнім арифметичним двох варіаційних рядів за критерієм вірогідності (td) і таблицями Ст'юдента

(Автанділов Г. Г., 1990; Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І., 2011). Різницю між двома величинами вважали вірогідною за $p < 0,05$; $0,01$; $0,001$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ АНАЛІЗ

Морфологія та імуногістохімія органів у курей контрольної групи. Дослідження закономірності й становлення органів імуногенезу курей показало, що до 8-добового віку органи імунної системи практично не піддаються росту та розвитку, що пов'язано з низьким рівнем метаболічних процесів у щойно вилуплених курей. Проте за перший місяць життя темпи росту органів імуногенезу значно випереджають швидкість росту тіла. Органометричними дослідженнями встановлено прогресивний розвиток тимусу як центрального органа імуногенезу курей до 40-добового віку потім, починаючи з 90-добового віку, відбувалося різке зниження його абсолютної маси (АМ), що свідчить про розвиток інволюційних процесів. Максимальні показники відносної маси (ВМ) тимуса курей 20-добового віку вказували на формування тимусу і функціонування його активності на ранніх етапах органогенезу.

Морфологічно тимус у курей 8-добового віку є сформованим часточковим органом. У курей 20-добового віку лімфоцити з маркерами $CD8^+$ у мозковій речовині розміщені поодинокі по всій її поверхні, а навколо тимусних тілець вони формують скупчення, в окремих випадках у вигляді «обручки» (рис. 1). Лімфоцити із маркерами $CD4^+$ виявляються в мозковій та кірковій речовині часточок органу. Проте, у мозковій речовині таких клітин значно більше, ніж у кірковій речовині (рис. 2).

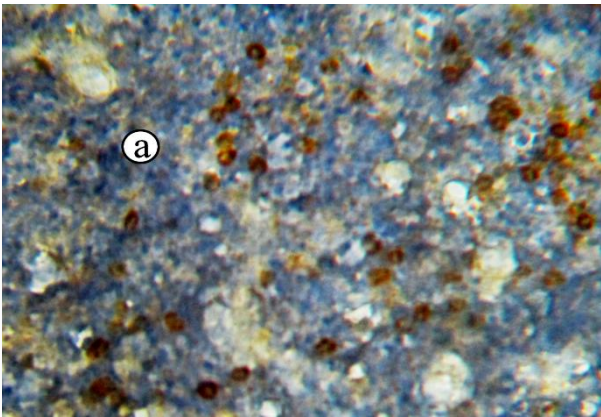


Рис. 1. $CD4^+$ -лімфоцити у тимусі курки 20-добового віку контрольної групи: а – мозкова речовина. Забарвлення гематоксилином з додатковим дофарбовуванням гематоксилином Майєра. х 600

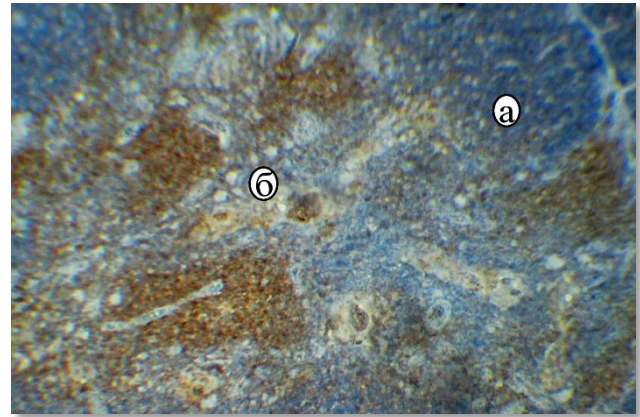


Рис. 2. $CD8^+$ -лімфоцити у тимусі курки 20-добового віку: а – кіркова речовина; б – мозкова речовина. Забарвлення гематоксилином з додатковим дофарбовуванням гематоксилином Майєра. х 280

Проведеними нами цитоморфометричними дослідженнями на виявлення лімфоцитів з характерними маркерами встановлено, що кількість лімфоцитів з маркерами $CD4^+$ в органі курей 8-добового віку контрольної групи становила

15,28±1,18 шт. на умовну одиницю площі (ок. 10, об. 40); CD8⁺, відповідно, 13,61±1,21 шт. Індекс диференціації (кількісне співвідношення лімфоцитів з антигенними детермінантами CD4⁺/CD8⁺) склав 1,47±0,27, що вказує на функціонування клітин імунного захисту у кінці пренатального розвитку плода (рис. 3).

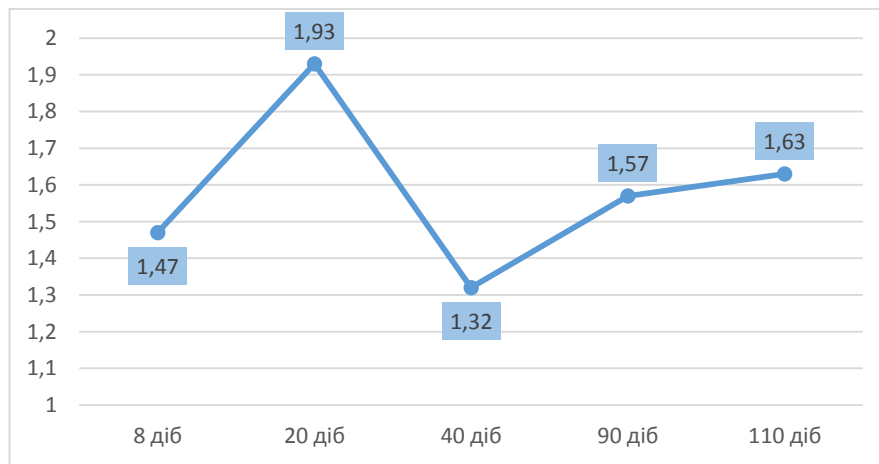


Рис. 3. Індекс диференціації лімфоцитів (співвідношення CD4⁺/CD8⁺) тимуса у курей контрольної групи

У курей 40-добового віку лімфоцити із маркерами CD45RA⁺ формують у КР часточок тимуса окремі групи з 2–5 клітин. Значна кількість таких лімфоцитів розташована біля тимусних тілець, а також вони, як і у попередній віковій групі, утворюють суцільні поля в мозковій речовині. Кількість клітин, що експресують маркер CD45RA⁺, порівняно з курами 20-добового віку вірогідно ($p < 0,001$) зменшилася в 1,27 раза і склала 41,11±1,66 шт. У курей 110-добового віку лімфоцити із маркерами CD45RA⁺ формують у тимусних часточках скупчення у вигляді «корони» (рис. 4). У контрольних курей 8 та 20-добового віку лімфоцитів з маркерами CD20⁺ не виявляли. У курей 40-добового віку відбуваються кількісні зміни у відношеннях тканинних компонентів тимуса. При цьому, виявляли значну кількість лімфоцитів з поверхневими маркерами CD20⁺ у мозковій речовині.

Абсолютна маса клоакальної сумки (КС) у курей 8-добового віку контрольної групи становила 0,073±0,005 г, ВМ – 0,285±0,112 %. Максимальні показники АМ КС на 40-ову добу свідчили про її сформованість та функціональну активність, а починаючи з 90-добового віку, різке зниження АМ органа – про початок розвитку інволюційних процесів. У міру розвитку вікової фізіологічної інволюції у клінічно здорової птиці сполучнотканинні прошарки складок КС розросталися, інфільтрувалися гранулоцитами, лімфоцитами, макрофагами і плазматичними клітинами. Кількість і співвідношення клітинних елементів сполучної тканини змінювалися залежно від функціонального стану імунної системи та віку курей. Згідно із результатами проведених нами імуногістохімічних досліджень, у КС курей 8-добового віку лімфоцити з маркерами CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺ у часточках КС розташовані поодинокі, а

лімфоцити з маркерами $CD20^+$ – дифузно. Аналогічні розміщення лімфоцитів з маркерами $CD20^+$ спостерігали і у курей 20, 40, 90 та 110-добового віку (рис. 5).

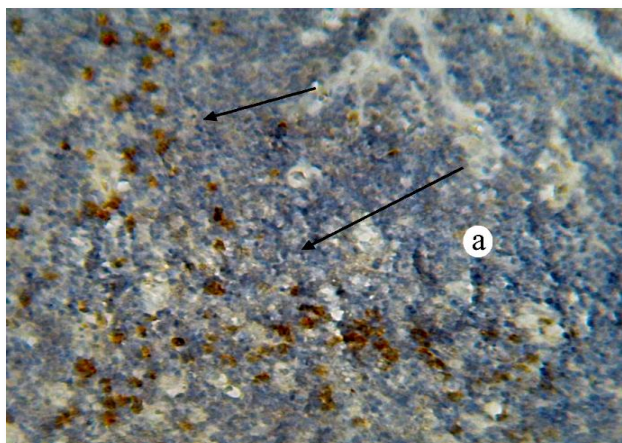


Рис. 4. $CD45RA^+$ -лімфоцити (стрілки) у тимусі курки 110-добового віку контрольної групи: а – часточка. Забарвлення гематосиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. x 400

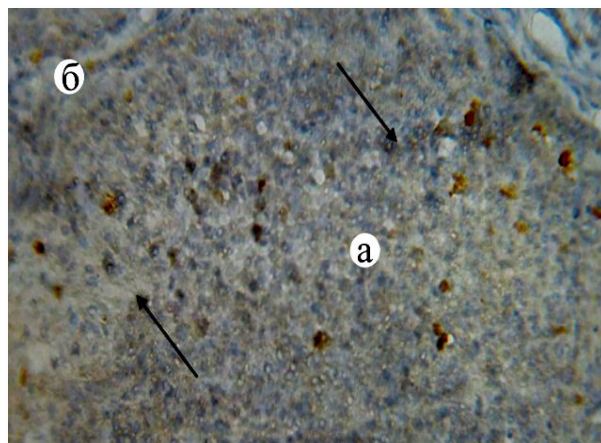


Рис. 5. $CD8^+$ -лімфоцити (стрілки) у складці клоакальної сумки курки 20-добового віку: а – часточка; б – міжчасточкова сполучна тканина. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. x 400

Селезінка має максимальну швидкість росту і розвитку порівняно з іншими органами імунної системи. Зростання її абсолютної маси, за нашими даними, відбувається синхронно до 110-добового віку. Проведені нами органометричні дослідження показують, що АМ селезінки у курей 8-добового віку контрольної групи становила $0,053 \pm 0,002$ г. З ростом і розвитком курей цей показник прогресивно збільшувався ($p < 0,001$): у 20-добовому віці курей – у 4,75 рази стосовно попередньої вікової групи, у 40-добових – у 2,08 рази, у 90-добових у 1,57 та 110-добових – у 1,96 рази. При цьому відносна маса селезінки у курей 8-добового віку склала $0,246 \pm 0,119$ %. У подальші вікові періоди, на ранніх етапах постнатального періоду онтогенезу, ВМ селезінки змінювалась у бік прогресивного зменшення: у 20-добовому віці на 0,051 %, у 40-добовому – 0,040 %, у 90-добовому на 0,037 %. У курей 110-добового віку спостерігали зростання ВМ органа порівняно з 90-добовими. Так, якщо в 90 діб ВМ становила $0,118 \pm 0,003$ %, то у 110 – $0,148 \pm 0,006$ % ($p < 0,001$).

Згідно з імуногістохімічними дослідженнями у селезінці курей 8-добового віку субпопуляції лімфоцитів з кластерами $CD4^+$, $CD8^+$ та $CD45RA^+$ розташовані поодинокі по всій паренхімі органа. У селезінці курей 20, 40, 90 і 110-добового віку відбуваються подальші процеси диференціації та формування білої пульпи, при цьому субпопуляції лімфоцитів з кластерами $CD4^+$ і $CD8^+$ розміщені переважно навколо центральних артерій ЛВ та періартерільних лімфоїдних піхв. Цитоморфометричними дослідженнями встановлено, що у курей 90-добового віку кількісні показники субпопуляцій лімфоцитів $CD4^+$ складають $46,22 \pm 0,91$ шт. ($p < 0,05$), $CD8^+$ – $24,39 \pm 0,81$ шт. Достатньо висока кількість субпопуляцій

лімфоцитів $CD4^+$, порівняно з $CD8^+$ -лімфоцитами, зумовила зростання ІД ($1,92 \pm 0,06$), що є показником активізації клітинних взаємодій системи імунного захисту.

За результатами наших гістологічних досліджень, у селезінці та сліпокишкових мигдаликах у курей до 20-добового віку, а в гардеровій залозі до 40-добового сформовані лімфоїдні вузлики відсутні, що і є ознакою функціональної їх незрілості.

Біла пульпа селезінки, на ранніх етапах постнатального періоду онтогенезу ще не сформована, виявлені лише окремі скупчення лімфоїдної тканини, які не мали чіткої межі у паренхімі органа. Білу пульпу формували лише невеликі за розмірами пухкі дифузні поля лімфоцитів, розташовані в напрямку дрібних кровоносних судин. У 20-добових курей здебільшого спостерігали періартеріальні лімфоїдні піхви, проте чіткої межі між білою та червоною пульпами не виявляли.

Згідно з органометричними дослідженнями встановлено максимальні піки АМ ГЗ на 40-ву добу з наступним зниження її АМ ГЗ у 90-добовому віці, що характерно для розвитку інволюційних процесів органа. При цьому максимальні показники відносної маси ГЗ курей 8-добового віку свідчили про прогресивні темпи росту ГЗ впродовж першого тижня життя відносно темпів росту і розвитку тіла курей. У 40-добовому віці курей, згідно з морфометричними дослідженнями, у ГЗ з'являються лімфоїдні утворення, які представлені дифузною та вузликуватою формами лімфоїдної тканини. Площа лімфоїдних утворень у цей період склала $5,46 \pm 0,14$ %. Також відбувалося вірогідне зменшення секреторної частини органа на $6,44$ % ($p < 0,001$) порівняно з курами 20-добового віку.

У 20-добовому віці курей лімфоїдна тканина сліпокишкових мигдаликів (СКМ) була представлена дифузними скупченнями лімфоїдних клітин, а також сформованими ЛВ, кількість яких у курей 20-добового віку контрольної групи склала $4,27 \pm 0,34$ шт. Діаметр ЛВ становив $52,7 \pm 1,57$ мкм. У 40-добових курей СКМ були сформованими, про що свідчив розвиток лімфоїдної тканини у вигляді ЛВ. Так, кількість ЛВ у курей 40-добового віку контрольної групи набула максимального значення і дорівнювала, відповідно, $10,83 \pm 0,28$ шт ($p < 0,001$). Діаметр ЛВ становив $85,4 \pm 2,31$ мкм ($p < 0,001$). У 90-добовому віці курей розміри ЛВ, порівняно з птицею 40-добового віку, також зростали і в цей період мали найбільші розміри – діаметром $156,6 \pm 1,02$ мкм ($p < 0,001$).

Локалізація та щільність розміщення лімфоцитів з маркерами $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$ та $CD20^+$ в органах імуногенезу та кровотворення залежали від віку курей: у тимусі найбільше такі клітини виявляли у мозковій речовині часточок (див. рис. 1); у клоакальній сумці – часточках (див. рис. 5); селезінці – навколо кровоносних судин (рис. 6) та в періартеріальних і періеліпсоїдних лімфоїдних піхвах; сліпокишкових мигдаликах та гардеровій залозі – у лімфоїдних вузликах та дифузній лімфоїдній тканині (рис. 7). У клітинному складі тимуса, селезінки, гардеровій залозі та сліпокишкових мигдаликах на всіх ранніх етапах постнатального періоду онтогенезу клінічно здорових курей домінують Т-лімфоцити з маркерами $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$ над В-лімфоцитами з маркерами $CD20^+$. Їх кількість та щільність розміщення з віком курей зростає. При цьому у

тимусі клінічно здорових курей 8 та 20-добового віку лімфоцитів з маркерами CD20⁺ не виявлено.

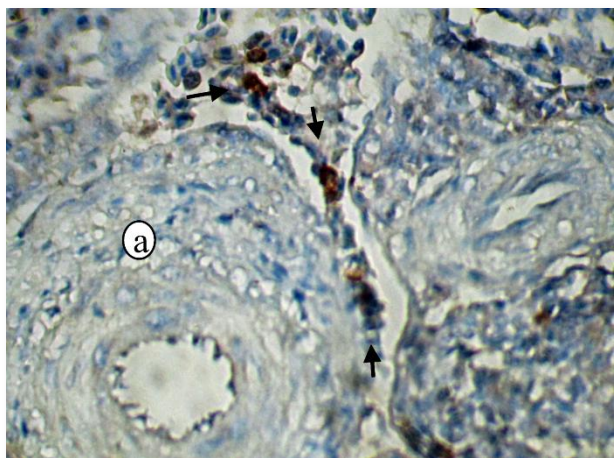


Рис. 6. CD20⁺-лімфоцити (стрілки) у селезінці курки 90-добового віку контрольної групи: а – кровосна судина. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. x 400

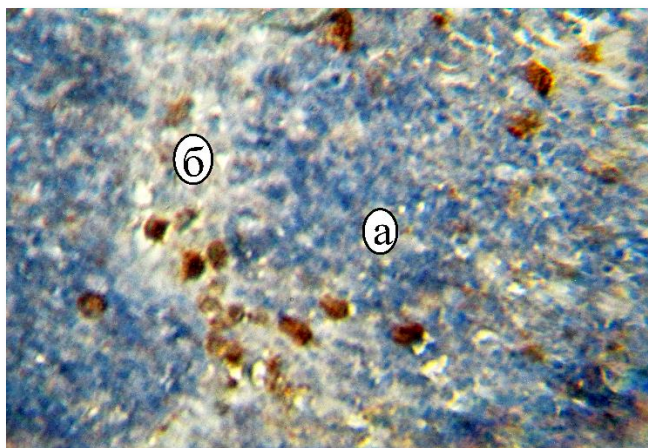


Рис. 7. CD8⁺-лімфоцити у слипокишкових мигдаликах курки 90-добового віку: а – лімфодний вузлик; б – скупчення CD8⁺-лімфоцитів. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. x 600

Абсолютна маса легень курей 8-добового віку, згідно з органометричними дослідженнями, складала $0,28 \pm 0,003$ г. З віком курей вона вірогідно зростала: у курей 20-добового віку до $1,04 \pm 0,05$ г ($p < 0,001$), 40-добового – до $1,46 \pm 0,07$ г ($p < 0,001$), 90-добового – до $2,49 \pm 0,09$ г ($p < 0,001$) та 110-добового віку до $4,91 \pm 0,13$ г ($p < 0,001$). ВМ легень у курей 8-добового віку становила $0,70 \pm 0,03$ % і змінювалась у процесі розвитку курей залежно від АМ органа і маси тварин. Так, у 20-добовому віці цей показник незначно збільшився і дорівнював $0,81 \pm 0,04$ %. У курей 40 та 90-добового віку спостерігали вже зменшення ВМ органа стосовно птиці попередньої вікової групи, відповідно, до $0,46 \pm 0,02$ % ($p < 0,001$) та $0,37 \pm 0,02$ % ($p < 0,001$). Згідно з морфометричними дослідженнями кількість легневих часточок у курей контрольної групи 8-добового віку становила $58,72 \pm 1,21$ шт. У курей 20 та 40-добового віку легневі часточки були добре розмежованими, у деяких особин у паренхімі легень спостерігали розростання сполучної тканини. Кількість легневих часточок на одиницю площі (5 мм^2) у процесі постнатального періоду онтогенезу курей вірогідно зменшувалась і складала у 20-добовому віці $43,83 \pm 1,64$ шт., 40-добовому – $32,50 \pm 0,44$, 90-добовому – $24,38 \pm 1,24$, 110-добовому віці – $13,67 \pm 0,74$ шт.

Абсолютна маса нирок курей 8-добового віку складала $0,294 \pm 0,005$ г. У курей 20-добового віку цей показник збільшився у 2 рази і становив $1,4 \pm 0,048$ г ($p < 0,001$). Починаючи з 40-добового віку спостерігали вірогідне зростання АМ нирок майже в 3 рази порівняно з попередньою віковою групою, аж до $3,76 \pm 0,076$ г ($p < 0,001$). У 90-добовому віці АМ органа зростає на 2,6 г ($p < 0,001$), а в 110-добовому – на 1,09 г ($p < 0,001$) порівняно з попередніми віковими групами. ВМ нирок у курей контрольної групи 8-добового віку становила $0,727 \pm 0,028$ %. У

20-добовому віці цей показник, стосовно попереднього віку тварин вірогідно зріс і становив $1,086 \pm 0,044$ % ($p < 0,001$). Водночас у 40-добовому віці ВМ нирок майже не змінювалась і становила $1,193 \pm 0,029$ %. У 90-добовому віці ВМ органа вже була дещо меншою і склала $0,95 \pm 0,014$ %, а у курей 110-добового віку – вірогідно зменшувалась і становила $0,68 \pm 0,014$ % ($p < 0,001$). У курей 8-добового віку кількість ниркових тілець у полі зору мікроскопа (ок. 10, об. 8) становила $28,62 \pm 0,12$ шт. У всіх наступних вікових групах 20, 40, 90 та 110-добових курей відбувалося вірогідне зменшення цього показника ($p < 0,001$).

Абсолютна маса печінки у курей 8-добового віку склала $1,28 \pm 0,028$ г. У процесі постнатального розвитку АМ печінки прогресивно зростає. Так, у 20-добовому віці вже відмічали зростання ($p < 0,001$) АМ органа у 4,08 раза ($5,23 \pm 0,078$ г), у 40-добових курей – у 2,15 раза ($11,24 \pm 0,288$ г), 90-добових – 1,88 ($21,08 \pm 0,58$ г) та в 110-добових – у 1,12 раза ($23,63 \pm 0,42$ г). При цьому ВМ печінки у курей контрольної групи 8-добового віку становила $2,71 \pm 0,37$ %. У 20-добовому віці цей показник збільшився майже вдвічі – $4,06 \pm 0,08$ % ($p < 0,001$). Проте в наступні вікові періоди ВМ органа вже значно зменшився: у 40-добовому віці до $3,57 \pm 0,068$ %, у 90-добовому – до $3,17 \pm 0,886$ %, а вже у 110-добовому – до $2,17 \pm 0,051$ %.

Кількість печінкових часточок на одиницю площі (5 мм^2) у курей 8-добового віку контрольної групи становила $25,48 \pm 0,16$ шт. У наступних періодах відбувалося вірогідне зменшення цього показника стосовно попередньої вікової групи: у 20 добовому віці до $22,98 \pm 0,68$ шт. ($p < 0,01$), 40-добовому до $17,28 \pm 0,21$ шт. ($p < 0,001$), 90-добовому до $13,55 \pm 0,09$ ($p < 0,001$) та у 110-добовому до $10,2 \pm 0,14$ шт. ($p < 0,01$).

Патоморфологія та імуногістохімія органів курей за інфекційного бронхіту. За нашими патоморфологічними дослідженнями, ураження органів за інфекційного бронхіту курей має системний характер і проявляється залежно від віку птиці та форми захворювання: за респіраторної форми найбільш вражаються легені у курей до 20-добового віку; за нефрозо-нефритної форми – нирки у курей від 40 до 90-добового віку. За ураження органів імуногенезу перші ознаки впливу збудника інфекційного бронхіту виявляли у 20-добовому віці. При цьому за інфекційного бронхіту в легенях курей спостерігали гіперемію паренхіми, крововиливи. Респіраторний епітелій набряклий. Значна кількість дихальних капілярів заповнена десквамованим епітелієм, лімфоцитами, відбувалась лімфоїдна інфільтрація стінок пневмокапілярів, де сполучна тканина була потовщена, дихальні капіляри стиснуті, їх просвіти зменшені. Зустрічали вогнищеві скупчення лімфоїдних клітин та набряк строми. Окремі ділянки легеневої тканини і тканина навколо судин просочена трансудатом. У просвіті парабронхів відмічали наявність десквамованого епітелію, лімфоцитів та слизово-серозного ексудату. В стінках бронхів зареєстровано виразні ознаки ексудативного запалення: кровонаповнення артеріальних судин, набряк слизової, м'язової оболонки та адвентиції, запальна інфільтрація слизової оболонки та адвентиції переважно клітинами лімфоїдного ряду. Внаслідок набряку

утворювалися мікроцілини, заповненні трансудатом та серозним ексудатом, сполучна тканина з ознаками мукоїдного набухання, м'язова – зернистої дистрофії. Епітелій вкритий слизом, місцями відмічали десквамацію епітеліоцитів в просвіт бронхів. Згідно з гістометричними дослідженнями у хворих курей зменшувалася площа респіраторної частини паренхіми легень.

Гістоструктура нирок хворих курей у 40-добовому віці, за нефрозо-нефритної форми інфекційного бронхіту, зруйнована, помітна гіперемія і крововиливи їх паренхіми. Відмічали кровонаповнення капілярного сплетення судинного клубочка, зернисту дистрофію епітеліоцитів. Причому у деяких каналцях межі між епітеліальними клітинами не виявляли, їх ядра слабо сприймали забарвлення. У просвіті ниркових каналців виявляли накопичення білкової маси. З розвитком патологічного процесу за нефрозо-нефритної форми інфекційного бронхіту у курей, які хворіли у 90-добовому віці, виявлено гіперемію та крововиливи паренхіми нирок. Зустрічались повністю зруйновані ниркові тільця, закупорка просвітів звивистих каналців білковими масами, а також ділянки з розпадом каналців. На окремих ділянках органу зареєстрована атрофія судинного клубочка і відповідно виразне розширення порожнини ниркової капсули.

У міру розвитку захворювання вірус із течією крові потрапляв у всі органи й тканини, у тому числі і у печінку як найбільшу застінну залозу органів травлення. При цьому печінка у хворих курей, за результатами наших досліджень, була збільшена, дряблої консистенції, під час натискання легко рвалася, жовто-глинистого кольору. Малюнок печінки на розрізі згладжений. Розвиток інфекційного процесу за ІБ курей проявлявся і змінами мікроскопічної будови печінки: її паренхіма була помірно кровонаповнена, часточковість нечітка, гепатоцити округлої форми, межі між ними нечіткі, цитоплазма нерівномірно зерниста, ядра в них слабкоконтуровані. Виявляли наявність вогнищевих лімфоїдних скупчень, які розташовувалися поблизу кровоносних судин, зокрема центральних вен часточок, і складалися переважно з малих та середніх лімфоцитів. Відмічали набряк міжчасточкової сполучної тканини, а часточки віддалені одна від одної.

Вірус інфекційного бронхіту мав імуносупресивну дію на органи кровотворення та імуногенезу. Під час дослідження органів імуногенезу за інфекційного бронхіту встановлено, що перші зміни впливу збудника ІБ були характерні для курей, які хворіли у 20-добовому віці. При цьому найбільш виражені зміни у тимусі спостерігали в 90-добовому віці хворих курей. До того ж, у тимусі вже виникали регресивні зміни, які проявлялися зменшенням розмірів його часточок, межі між ними були згладжені, спостерігали збільшення площі МР та скупчення у ній тимусних тілець і псевдоеозинофілів, виявляли вогнищеві крововиливи. Крім того, спостерігали полікістоз, що вказував на посилений розвиток інволюційних процесів у тимусі хворих курей 90-добового віку.

У хворої птиці мікроскопічна будова КС зазнала значних змін. Часточки КС курей 90-добового віку за ІБ зменшувалися і піддавалися розпаду із заміщенням їх лімфоїдною тканиною на сполучну. У самих часточках та міжчасточковій

сполучній тканині виявляли багато макрофагів. Часточки набули полігональної форми, межі між КР та МР були згладженими. В окремих місцях спостерігали атрезію ЧКС, розрідження лімфоїдних елементів, формування на місці часточок залозистих структур та кістозних порожнин.

У селезінці, гардеровій залозі, сліпокишкових мигдаликах, які належать до периферичних органів кровотворення та імуногенезу, виражені зміни спостерігали здебільшого у курей, які хворіли у 40 та 90-добовому віці. Такі зміни проявлялись гіпоплазією і згладженням меж лімфоїдних вузликів, розростанням сполучної тканини та інфільтрацією паренхіми лімфоїдними клітинами. Внаслідок таких процесів відбувалося зменшення площі білої пульпи селезінки та діаметра лімфоїдних вузликів сліпокишкових мигдаликів.

Субпопуляції лімфоцитів з маркерами CD4⁺, CD8⁺, CD45RA⁺, CD20⁺ в органах імунного захисту хворих курей мали певні особливості щодо їх локалізації й розташування відповідно до того чи іншого досліджуваного органа та перебігу інфекційного процесу залежно від форми захворювання.

У тимусі хворих курей 40 та 90-добового віку, порівняно з клінічно здоровими, відбувалося вірогідне ($p < 0,001$) зростання субпопуляції В-лімфоцитів з поверхневим маркером CD20⁺: на 40-у добу – у 8,74, на 90-у – у 7,65 рази (табл. 1).

Таблиця 1

**Кількість субпопуляції лімфоцитів у тимусі курей за інфекційного бронхіту
($M \pm m$, $n = 6$)**

Групи курей	Показники			
	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD45RA ⁺	CD20 ⁺
	шт. на ум. од. площі (ок.10, об. 40)			
	20 діб			
Клінічно здорові	37,94±0,69	20,44±1,03	52,39±1,95	-
Хворі	45,06±1,94 ^{***}	42,56±2,27 ^{***}	69,05±3,29 ^{***}	20,38±1,69
	40 діб			
Клінічно здорові	39,44±1,59	31,28±1,51	41,11±1,66	40,33±1,37
Хворі	60,39±2,93 ^{***}	69,61±1,67 ^{***}	62,72±6,35 ^{**}	352,44±10,28 ^{***}
	90 діб			
Клінічно здорові	44,39±2,02	29,11±1,07	61,89±3,97	36,16±1,69
Хворі	63,17±1,19 ^{***}	66,33±1,37 ^{***}	76,05±4,39 [*]	276,67±19,79 ^{***}

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ стосовно клінічно здорових курей

Такий високий рівень імунокомпетентних клітин з поверхневим маркером CD20⁺ у тимусі хворих курей вказує на загальний характер розвитку імунного процесу за інфекційного бронхіту (рис. 8). Згідно з детальним аналізом імуногістохімічних досліджень нами встановлено, що на початку розвитку

захворювання виявлена велика кількість Т-хелперів і Т-цитотоксичних клітин та нормальних Т-кілерів, що формувало низьке співвідношення $CD4^+/CD8^+$. При цьому ІД у хворих курей 20-добового віку вірогідно ($p < 0,001$) зменшився у 1,7 раза порівняно з клінічно здоровими.

Згідно із морфометричним аналізом, кількість субпопуляції лімфоцитів з кластерами $CD4^+$ у КС хворих курей 20-добового віку за респіраторної форми мала тенденцію до зростання порівняно з клінічно здоровими, а в 40 та 90-добовому віці за нефрозо-нефритної форми ІБ спостерігали вже вірогідне зниження кількості Т-хелперів у 1,16 ($p < 0,05$) та 1,21 рази ($p < 0,001$) відповідно. У клоакальній сумці хворих курей 20, 40, 90-добового віку за ІБ спостерігали вірогідне ($p < 0,001$) зростання кількості субпопуляції $CD20^+$ порівняно з клінічно здоровою птицею у 3,39, 2,51 та 2,22 рази відповідно (рис. 9).

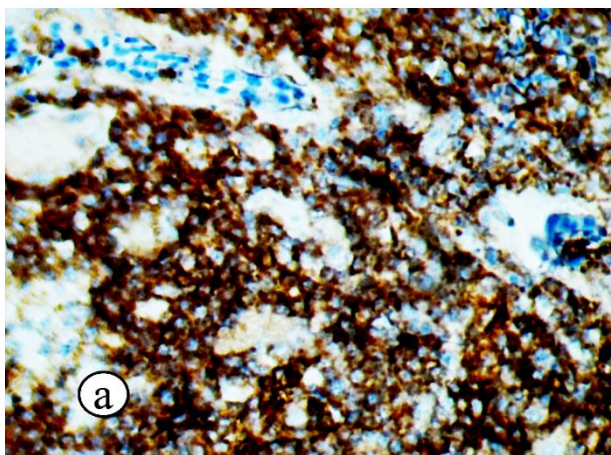


Рис. 8. $CD20^+$ -лімфоцити у тимусі курки 40-добового віку за інфекційного бронхіту: а – мозкова речовина. Забарвлення гематоксилином з додатковим дофарбовуванням гематоксилином Майєра. х 400

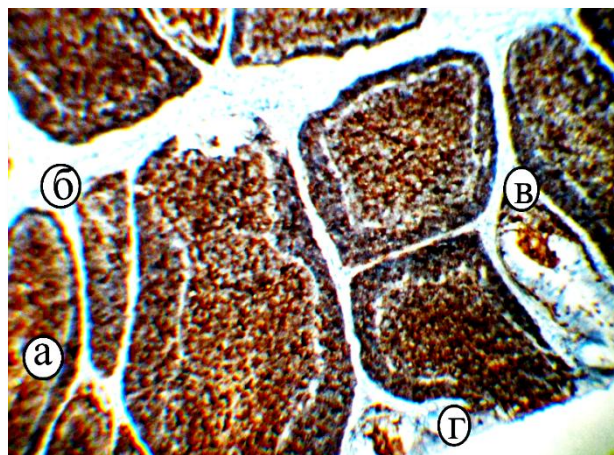


Рис. 9. $CD20^+$ -лімфоцити у клоакальній сумці курки 40-добового віку за інфекційного бронхіту а – часточка; б – міжчасточкова сполучна тканина; в – спустошена часточка; г – інтерфолікулярний епітелій. Забарвлення гематоксилином з додатковим дофарбовуванням гематоксилином Майєра. х 280

Наслідком більш тривалого перебігу захворювання, про що свідчать імуноморфометричні дослідження, було зниження кількості Т-лімфоцитів, що експресували $CD4^+$ клітини. Так, у селезінці хворих курей 40-добового віку за нефрозо-нефритної форми ІБ спостерігали вірогідне ($p < 0,01$) зменшення їх у 1,32 раза порівняно з клінічно здоровими. Проте в селезінці курей 20-добового віку, за респіраторної форми ІБ та 90-добового віку, за нефрозо-нефритної форми ІБ спостерігали вже вірогідне зростання кількості лімфоцитів з маркерами $CD4^+$ порівняно з клінічно здоровими курами: у 1,45 та 1,09 рази відповідно. У хворих курей 40-добового віку за нефрозо-нефритної форми ІБ періартеріальні лімфоїдні піхви селезінки містили скупчення переважно з 3–5 лімфоцитів із маркерами $CD45RA^+$. Також у цих курей виявляли значне скупчення наївних Т-хелперів, В-лімфоцитів та моноцитів із поверхневими маркерами $CD45RA^+$ у просвітах кровоносних судин (рис. 11).

Отримані результати наших досліджень свідчать про те, що у хворих курей відбувається порушення чисельності імунорегуляторних клітин, що вказує на можливість розвитку аутоімунних процесів за тривалого перебігу інфекційного бронхіту курей. У міру прогресування захворювання знижується індекс диференціації (імунорегуляторний) лімфоцитів селезінки, що свідчить про розвиток імуносупресії у хворих курей (рис. 10).

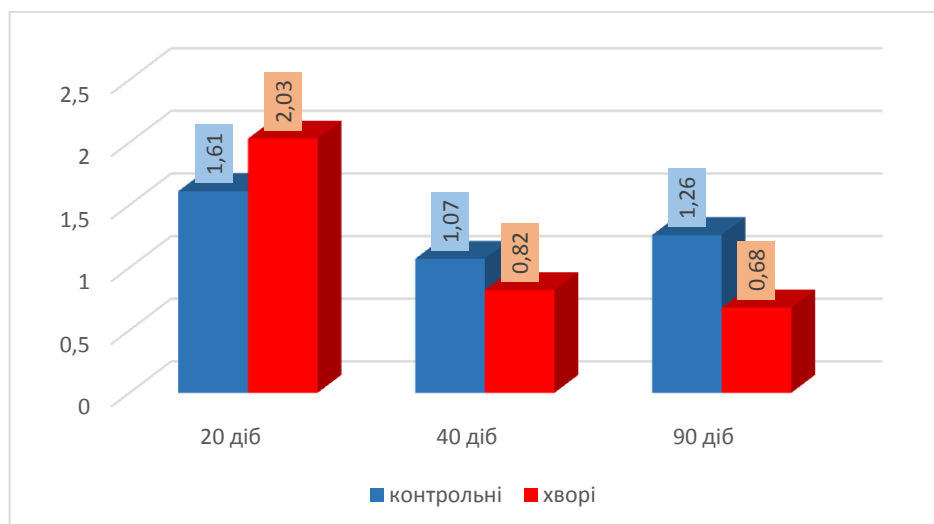


Рис. 10. Індекс диференціації (співвідношення $CD4^+/CD8^+$) селезінки курей за інфекційного бронхіту

Характер цитоморфометричної оцінки субпопуляції В-лімфоцитів з поверхневим маркером $CD20^+$ в органах кровотворення та імуногенезу хворих курей значно відрізнявся у бік вірогідного зростання від клінічно здорових тварин. Так, у селезінці цей показник збільшився: у 20-добовому віці хворих курей – у 11,95 раза, у хворих курей 40-добового віку – у 6,51 та хворих 90-добового віку – аж у 14,28 рази відповідно.

Лімфоцити із маркерами $CD20^+$ знаходились у вигляді незначних скупчень біля сформованих лімфоїдних вузликів, міжвузlikової дифузної лімфоїдної тканини, а також у вигляді поодиноких клітин у самому вузлику СКМ. Водночас, апікальна ділянка цитоплазми епітеліоцитів, строма ворсинок та власна пластинка слизової оболонки сліпої кишки містила значну кількість клітин із маркерами $CD20^+$. У хворих курей 90-добового віку значну кількість зрілих В-лімфоцитів ($CD20^+$ -лімфоцити) виявляли і у ворсинках слизової оболонки кишки.

За результатами цитоморфометричного аналізу в СКМ курей 20-добового віку за респіраторної форми ІБ та у 40 і 90-добових за нефрозо-нефритної форми спостерігали вірогідне зростання кількості лімфоцитів з маркерами $CD4^+$ порівняно з клінічно здоровими. При цьому кількість клітин, що експресують маркер $CD8^+$, $CD45RA^+$ та $CD20^+$, також вірогідно ($p < 0,001$) зростала порівняно з клінічно здоровими. Притому ІД у хворої птиці вірогідно зменшився, що свідчить про наявність Т-клітинного імунодефіцитного стану хелперного типу за відносним гіперцитотоксичним варіантом.

Імуногістохімічними дослідженнями підтверджено наявність лімфоцитів з маркерами $CD8^+$ у ГЗ хворих курей 20-добового віку за респіраторної форми ІБК, яких у клінічно здорових курей не виявляли. Фарбування гістопрепаратів ГЗ хворих курей 20-добового віку за респіраторної форми та 40 і 90-добового віку за нефрозо-нефритної форми ІБ антитілами щодо маркеру $CD8^+$ дало можливість виявити Т-лімфоцити в секреторних часточках. Проте, згідно з цитоморфометричними дослідженнями, їх кількість у хворих курей 40 і 90-добового віку вірогідно ($p < 0,001$) зростала порівняно з клінічно здоровою птицею в 4,84 та 4,51 рази відповідно. У хворих курей 90-добового віку за нефрозо-нефритної форми В-лімфоцити були локалізовані в ЛВ та міжчасточковій сполучній тканині, при чому в секреторних часточках ГЗ лімфоцитів із маркерами $CD20^+$ не виявлялись (рис. 12). У лімфоїдних вузликах ці клітини займали значну частину їх площі.

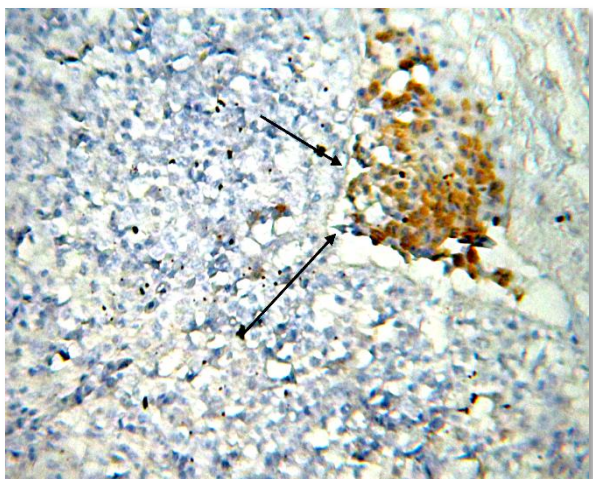


Рис. 11. Скупчення $CD45RA^+$ -лімфоцитів (стрілки) в просвіті кровоносної судини в селезінці курки 40-добового віку за нефрозо-нефритної форми інфекційного бронхіту. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. $\times 400$



Рис. 12. $CD20^+$ -лімфоцити у гардеревій залозі курки 90-добового віку за нефрозо-нефритної форми інфекційного бронхіту: а – лімфоїдні утворення; б – міжчасточкова сполучна тканина; в – секреторна часточка. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. $\times 100$

Морфологія та імуногістохімія органів курей за вакцинації проти інфекційного бронхіту. З'ясовано, що вакцинація курей у сучасному птахівництві, незалежно від тих чи інших вакцин для інтенсивної профілактики інфекційних хвороб, потребує проводити імунізацію птиці, починаючи з добового віку. Також аналіз схем специфічної профілактики показує, що на СТОВ «Старосолотвинська птахофабрика» комплексні програми імунізацій починаються з антигенної стимуляції у щойно вилуплених курей проти ІБК. При цьому вакцинація молодняку курей проти інфекційного бронхіту супроводжується морфологічною перебудовою органів імуногенезу та кровотворення, яка проявляється гіперплазією лімфоїдних структур, макрофагальною і плазмоцитарною реакцією, активізацією ендотелію судин

мікроциркуляторного руслу, проліферацією лімфоцитів кіркової речовини тимуса та клоакальної сумки, що сприяє формуванню активізації, як гуморального, так і клітинного імунітету проти інфекційного бронхіту.

Гістологічний аналіз результатів наших досліджень дозволив виявити у КС вакцинованих курей зміни її гістоархітекtonіки та морфометричних показників залежно від віку курей і терміну проведення вакцинації. При цьому у більшості випадків такі зміни проявлялися згладженням меж між КР та МР, розростанням сполучної тканини, появою мікрокістозних порожнин. Починаючи з 40-добового віку, на відповідь антигенного подразнення внаслідок вакцинації, зменшувалася площа кіркової речовини клоакальної сумки, збільшувалася загальна площа часточок, їх кількість та розміри порівняно з невакцинованими курами. Характерні поствакцинальні реакції відбувалися і на більш пізніх етапах постнатального онтогенезу у вакцинованих курей. У курей 110-добового віку після п'ятикратної вакцинації гістоархітекtonіка тимуса мала певні зміни щодо контролю. Кіркова речовина часточок складалася з нещільно розташованих тимоцитів, а їх МР містила значну кількість великих епітеліальних тимусних тілець, які перебували на різних стадіях руйнування. Морфологічні зміни проявлялися виразною лімфочасточковою гіперплазією. При цьому КР часточок була значно розширеною. Від сполучнотканинної капсули відходили добре виражені внутрішньочасточкові сполучні прошарки, що досягали МР. Мозкова речовина була інтенсивно інфільтрована лімфоцитами, які формували щільні кулясті скупчення, що нагадували лімфоїдні вузлики і тяжі з лімфоцитів, подібні до мозкових тяжів у лімфатичних вузлах ссавців. На окремих гістопрепаратах у КР часточок виявляли кістозні порожнини.

Отримані результати наших досліджень свідчать, що вакцинація курей проти інфекційного бронхіту стимулює інтенсивний розвиток імунних утворень, у тому числі і в селезінці, порівняно з невакцинованою птицею, що проявляється формуванням періартеріальних лімфоїдних піхв та ЛВ з гермінативними центрами починаючи з 20-добового віку.

Виявлені нами поствакцинальні зміни гістоархітекtonіки та морфометричних показників в органах дослідних курей мали пряме відношення до кратності вакцинації та були зумовлені віковими особливостями дослідних тварин у постнатальному періоді онтогенезу. Так, під час імунізації курей проти інфекційного бронхіту в імунних органах спостерігали зменшення абсолютної маси тимуса та клоакальної сумки у 8, 20 та 40-добовому віці, що вказує на посилення міграції Т- та В- лімфоцитів у периферичні органи імуногенезу для здійснення імунних реакцій.

За нашими результатами, застосування курям у період їх виводу в умовах інкубаторію, з метою стимуляційної дії імунної відповіді гуморального імунітету, імуномодулятора АвесстимTM аерозольно, потім шляхом випоювання його із розрахунку 10 мл на 1 літр води (1:1000), за дві доби до та дві доби після вакцинації, не викликало негативного впливу на гістоархітекtonіку органів, а навпаки сприяло підвищенню їх морфофункціонального стану.

Згідно із нашими дослідженнями, у разі застосування препарату Авесстим™ під час вакцинації спостерігали посилення проліферативної активності кортикальних лімфоцитів тимуса, короткочасне пригнічення інтенсивності плазмоцитарної реакції у КС та селезінці з наступною її активізацією, що свідчило про імуностимулювальний вплив імуномодулятора на біосинтетичні процеси в організмі.

Детальний аналіз результатів наших морфологічних досліджень показав, що застосування імуномодулятора Авесстим™ не справляє негативного впливу на гістоархітектоніку імунних органів дослідних курей, а навпаки підвищує абсолютну масу селезінки, забезпечує гіперплазію білої пульпи, зумовлену інтенсивною проліферацією лімфоцитів, стимулює розвиток імунних утворень, що проявляється збільшенням кількості та розмірів лімфоїдних вузликів СКМ порівняно з контрольною групою. До того ж відбувається посилення проліферації кортикальних лімфоцитів тимуса, що зумовлено високим рівнем їх мітотичної активності, підвищенням щільності клітин у КР і МР тимусних часточок.

У ході морфометричного дослідження органів кровотворення та імуногенезу курей дослідної групи спостерігали зростання показників на клітинному і тканинному рівнях: площі КР, кількості тимусних тілець у часточці та ІК. У вакцинованих курей 110-добового віку, яким задавали імуномодулятор площа КР тимуса збільшилась на 10,47 % ($p < 0,001$), порівняно з контролем, та на 7,96 % ($p < 0,001$) – порівняно із тільки вакцинованими курами. Такі результати безперечно вказували на пригнічення інволюційних процесів органу в курей внаслідок позитивної дії імуномодулятора. Відповідно, це і підтверджується зростанням ІК у дослідних курей другої групи порівняно з тільки вакцинованими. Отже, зростання площі КР та ІК у дослідних курей вказує на активізацію імунних процесів в органах імуногенезу в цілому та в тимусі зокрема. Окрім того, такі результати активності імунних процесів підтверджувалися вірогідним зростанням кількості тимусних часточок у вакцинованих курей під час вживання Авесстим™ щодо тільки вакцинованих.

Результати морфометричного дослідження ГЗ показали, що площа секреторних часточок та лімфоїдних утворень була значно більшою в залозі курей 40, 90 та 110-добового віку, яким додавали до основного раціону препарат Авесстим™, ніж у птиці контрольної групи.

За результатами гістологічних та морфометричних досліджень КС встановлено, що в дослідній групі вакцинованих курей у разі застосування імуномодулятора Авесстим™ спостерігали зростання площі КР часточок, їх кількості, розмірів та ІК (рис. 13). Такі результати зростання морфометричних параметрів органів кровотворення та імуногенезу у курей другої дослідної групи стосовно контрольних та тільки вакцинованих є вірогідними і підтверджують доцільність застосування даного імуномодулятора для вакцинації курей проти інфекційного бронхіту з метою покращення активності гуморального імунітету.

Результати наших гістологічних та морфометричних досліджень легень і нирок вказують на доцільність застосування імуномодулятора Авесстим™, який

під час вакцинації курей не викликає негативного впливу на гістоархітектоніку нирок, а навпаки сприяє підвищенню їх морфофункціонального стану.

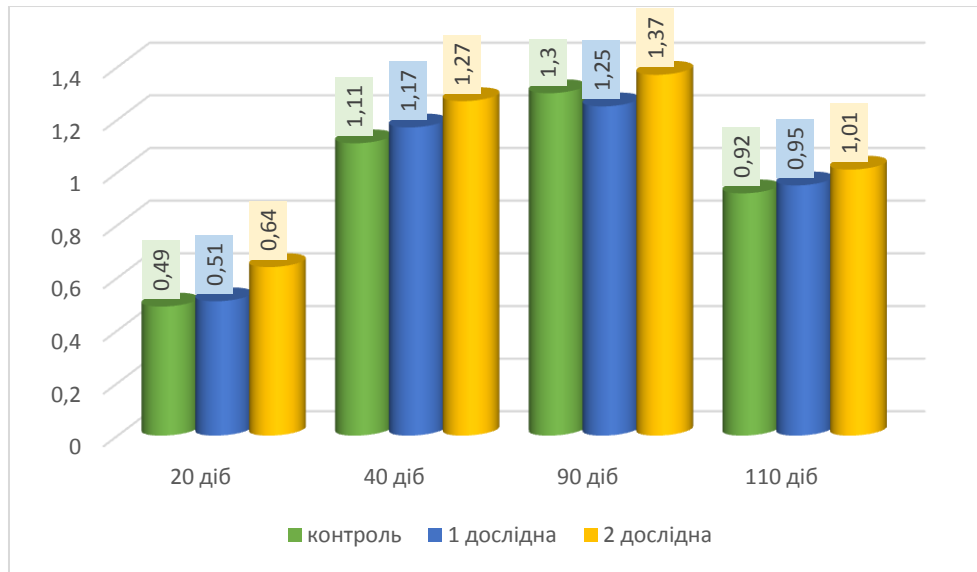


Рис. 13. Індекс кори клоакальної сумки курей за вакцинації проти інфекційного бронхіту та застосування імуномодулятора Авесстим™

Застосування даного імуномодулятора у вакцинованих курей, стимулює перебіг метаболічних процесів у печінці, особливо у 40, 90 та 110-добовому віці, на що вказують результати морфометричних досліджень, а саме, зниження ЯЦВ гепатоцитів у курей другої дослідної групи щодо тільки вакцинованих (рис. 14).

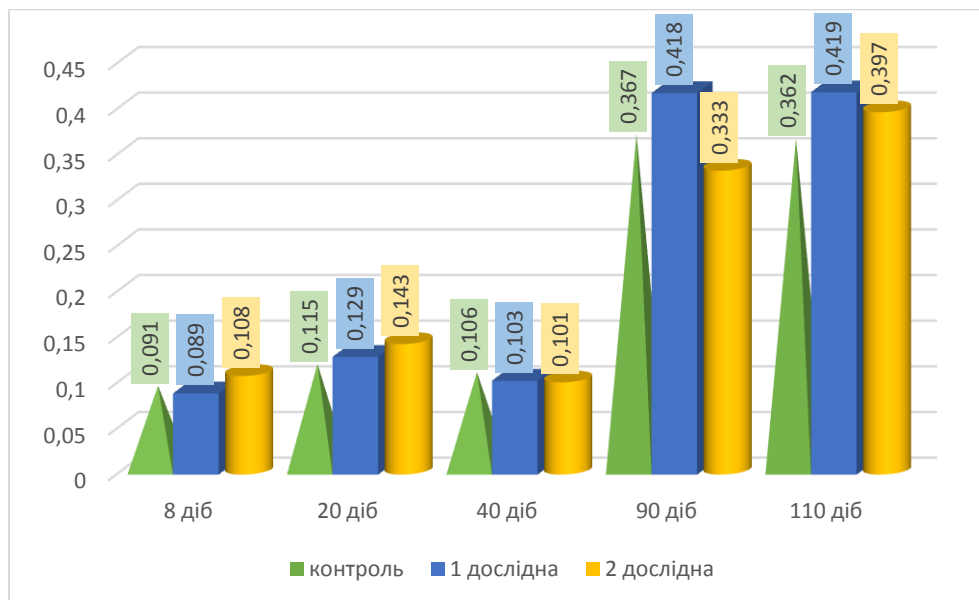


Рис. 14. Ядерно-цитоплазматичне відношення гепатоцитів печінки курей за вакцинації проти інфекційного бронхіту та застосування імуномодулятора Авесстим™

Позитивний вплив імуномодулятора Авесстим™ на гуморальний імунітет зберігався впродовж тривалого періоду. Високі титри поствакцинальних антитіл у сироватці крові птиці, якій задавали імуномодулятор, свідчили не тільки про посилення проліферації й диференціації плазмоцитів, а й про активну стимуляцію біосинтетичних процесів в антитілоутворювальних клітинах.

Імуногістохімічними дослідженнями встановлено, що у вакцинованих курей 40-добового віку лімфоцити з маркерами CD8⁺ були розташовані дифузно в мозковій речовині, поодинокую локалізацію їх виявляли у кірковій речовині, а також вони утворювали скупчення у міжчасточковій сполучній тканині. У курей 20 та 40-добового віку при вакцинації проти інфекційного бронхіту хелперні клітини формували скупчення у вигляді «півмісяця». При чому у курей 20-добового віку дане скупчення формувалось в КР навколо МР тимусної часточки (рис. 15), а у курей 40-добового віку на периферії КР часточки. У вакцинованих курей 20-добового віку CD45RA⁺-лімфоцити локалізуються у вигляді скупчень навколо тимусних тілець. У порожнині тілець лімфоцитів з маркерами CD45RA⁺ не виявлено (рис. 16).

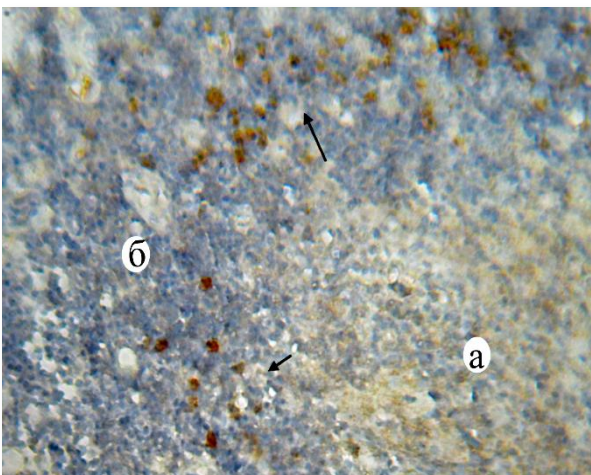


Рис. 15. CD4⁺-лімфоцити (стрілки) у тимусі вакцинованої курки 20-добового віку: а – мозкова речовина; б – кіркова речовина. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. х 400

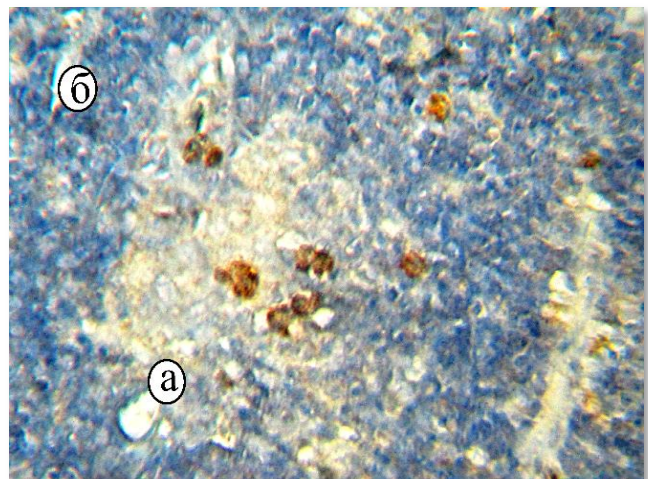


Рис. 16. Скупчення CD45RA⁺-лімфоцитів навколо тимусних тілець вакцинованої курки 20-добового віку: а – тимусне тільце, б – мозкова речовина. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. х 600

Цитоморфометричний аналіз, який є об'єктивним критерієм оцінки кількісних показників, показав вірогідне ($p < 0,001$) збільшення кількості В-лімфоцитів з маркером CD20⁺ у тимусі вакцинованих курей 40, 90 та 110-добового віку, відповідно, у 4,77, 4,73 та у 4,35 рази порівняно з невакцинованими курами. Кількість лімфоцитів з маркерами CD8⁺ у тимусі вакцинованих курей 8, 20, 40, 90 та 110-добового віку вірогідно ($p < 0,01$) зростала, відповідно, у 2,47, 1,85, 1,34, 1,75 та 1,71 рази порівняно з невакцинованою птицею. При цьому індекс диференціації лімфоцитів у вакцинованій групі

порівняно з контролем зменшувався, що вказує на посилену роботу імунної системи організму для знищення чужорідного антигену (рис. 17).

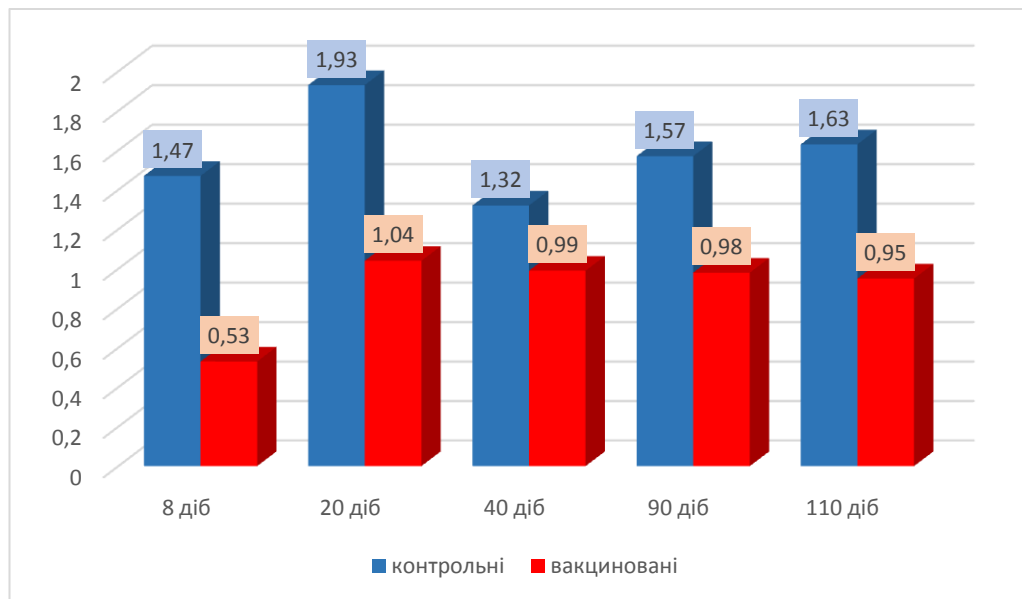


Рис. 17. Індекс диференціації лімфоцитів (співвідношення $CD4^+/CD8^+$) в тимусі вакцинованих курей

Вивчення субпопуляцій клітин КС з маркером $CD4^+$ дозволило встановити супресивну дію вакцини на ці клітини після імунізації проти ІБ. Звертає на себе увагу те, що реакція хелперів на вакцинний штам була набагато слабшою і на 90 та 110-у добу значно згасала. При цьому, цитоморфометричними дослідженнями встановлено, що кількість лімфоцитів з маркерами $CD4^+$ в КС вакцинованих курей 8, 20 та 40-добового віку мала тенденцію до зменшення, а у 90 та 110-добовому віці вже спостерігали вірогідне ($p < 0,001$) зменшення цього показника, відповідно, у 1,17 та 1,22 рази порівняно з невакцинованими (табл. 2). Водночас у селезінці встановлено вірогідне зростання $CD4^+$ лімфоцитів у всіх вікових групах вакцинованих курей порівняно з інтактною птицею. Проте реакція хелперів на вакцинний штам у селезінці курей 90 та 110-добового віку починала згасати порівняно з попереднім періодом.

Субпопуляції лімфоцитів з кластерами $CD4^+$ у курей 40-добового віку розміщені поодинокі переважно в самій часточці клоакальної сумки (рис. 18). В інших ділянках виявлено лише поодинокі розташовані клітини з маркерами $CD4^+$ по периферії часточки КС та у вигляді скупчень навколо них. Згідно з імуногістохімічними дослідженнями селезінки курей 8-добового віку, субпопуляції лімфоцитів з маркерами $CD8^+$ розміщені переважно поодинокі. У курей 20 та 40-добового віку $CD8^+$ -лімфоцити формували скупчення навколо гермінативних центрів та періартеріальних лімфоїдних піхв селезінки. У вакцинованих курей 90 та 110-добового віку ці лімфоцити розміщені поодинокі в червоній пульпі та дифузно – у білій (рис. 19).

**Кількість субпопуляцій лімфоцитів у клоакальній сумці курей
за вакцинації проти інфекційного бронхіту
($M \pm m$, $n=6$)**

Групи курей	Показники			
	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD45RA ⁺	CD20 ⁺
	на ум. од. площі (ок.10, об. 40), шт.			
	8 діб			
Контрольна	10,11±0,33	7,22±0,42	13,28±0,33	28,83±2,63
Вакцинована	9,94±0,24	8,22±0,42	15,06±0,63*	66,72±1,64***
	20 діб			
Контрольна	12,61±0,41	8,61±0,39	19,06±2,12	56,28±5,47
Вакцинована	11,94±0,61	10,11±0,48*	20,06±1,44	85,72±8,66***
	40 діб			
Контрольна	13,11±0,43	10,39±0,43	21,06±1,68	127,61±8,19
Вакцинована	12,06±0,33	10,72±0,41	24,72±0,65**	211,94±14,28***
	90 діб			
Контрольна	17,55±0,25	14,55±0,45	28,44±1,74	100,06±9,21
Вакцинована	14,94±0,39***	15,11±0,42	31,44±1,11	181,88±11,11***
	110 діб			
Контрольна	17,67±0,23	14,72±0,46	34,33±2,09	72,67±4,89
Вакцинована	14,44±0,33***	15,56±0,42	36,06±0,98	105,33±9,16***

Примітка. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ стосовно курей контрольної групи

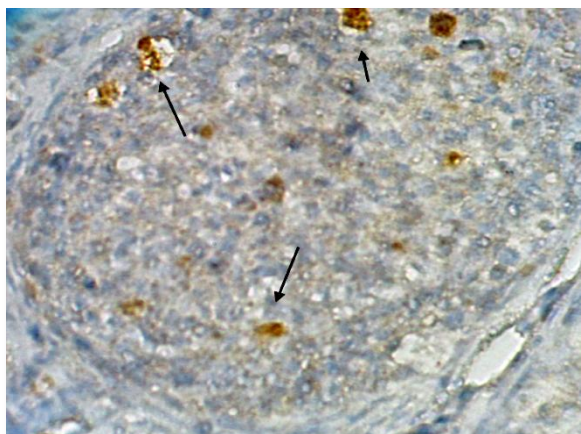


Рис. 18. CD4⁺-лімфоцити (стрілки) у клоакальній сумці вакцинованої курки 40-добового віку. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. x 400

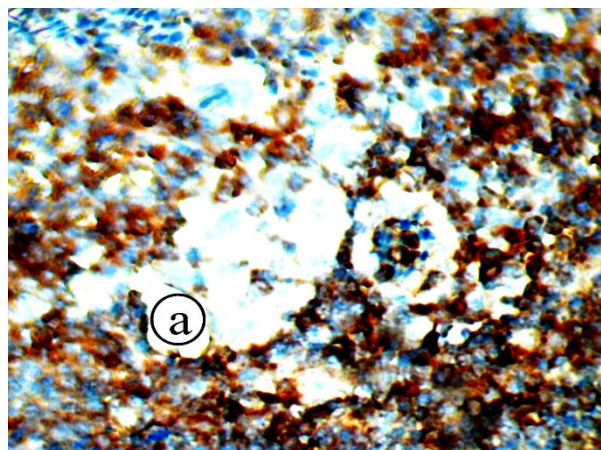


Рис. 19. CD8⁺-лімфоцити у селезінці вакцинованої курки 90-добового віку: а – біла пульпа. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. x 400

У ГЗ вакцинованої птиці 20-добового віку вже виявляли натуральні Т-хелпери, які у дослідних курей 8-добового віку були відсутні. Лімфоцитів з маркерами CD8⁺ в ГЗ вакцинованих курей 8 та 20-добового віку не виявляли.

Згідно з цитоморфометричними дослідженнями, їх кількість у вакцинованих курей 40, 90 та 110-добового віку вірогідно ($p < 0,001$) зроста порівняно з інтактними тваринами в 2,11, 2,38 та 2,96 рази відповідно. За даними імуногістохімічних досліджень, у вакцинованих курей 8 та 20-добового віку спостерігали поодинокі лімфоцити із маркерами $CD20^+$ в міжчасточковій сполучній тканині залози. Після трьох-, чотирьох- та п'ятикратної вакцинації проти ІБ у курей 40, 90 та 110-добового віку В-лімфоцити виявляли вже у міжчасточковій сполучній тканині, секреторних часточках, дифузній лімфоїдній тканині, а також незначні скупчення або поодинокі розташовані у цитопопуляції сформованих ЛВ (рис. 20).

У вакцинованих курей, порівняно з невакцинованими, у СКМ виявляли значну кількість зрілих В-лімфоцитів. У дослідних курей 8, 20, 40, 90 та 110-добового віку фарбування гістопрепаратів СКМ антитілами щодо маркера $CD20^+$ дало можливість виявити зрілі В-лімфоцити у сполучній тканині власної пластинки слизової оболонки, стромі ворсинок, між криптами та в дифузному скупченні лімфоїдних клітин (рис. 21).

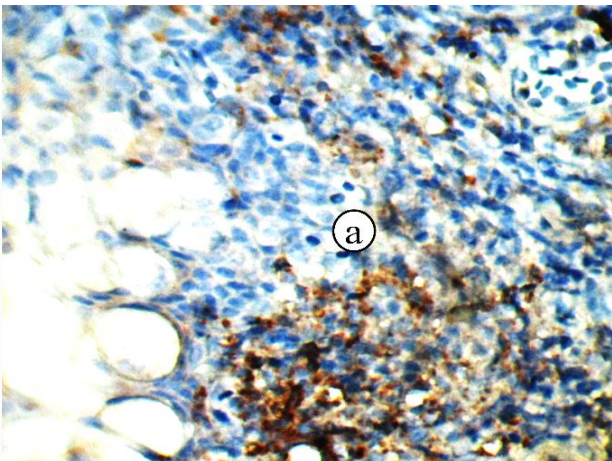


Рис. 20. $CD20^+$ -лімфоцити у гардеревій залозі вакцинованої курки 90-добового віку: а – лімфоїдні утворення. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. x 400

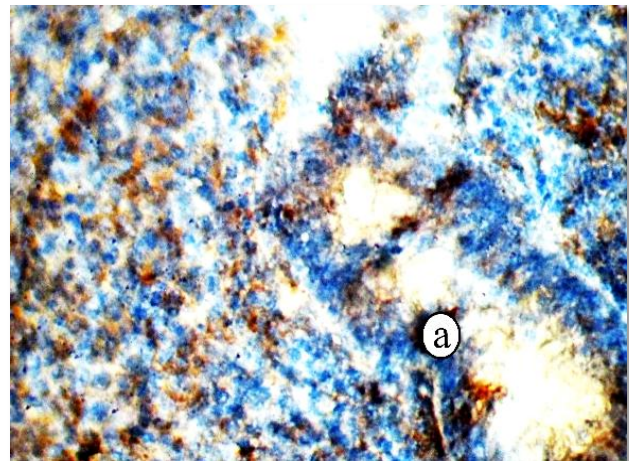


Рис. 21. $CD20^+$ -лімфоцити у сліпокишкових мигдаликах вакцинованої курки 110-добового віку: а – крипта. Забарвлення гематоксиліном з додатковим дофарбовуванням гематоксиліном Майєра. x 400

Результати імуноморфометричних досліджень показали, що кількість клітин кластера $CD8^+$ в органах кровотворення та імуногенезу імунізованих курей змінювалась у процесі розвитку патогенної реакції. Так у СКМ вакцинованих курей 8, 20, 40, 90 та 110-добового віку спостерігалось вірогідне ($p < 0,001$) збільшення $CD8^+$ -лімфоцитів щодо контролю: у 1,61, 1,83, 1,71, 2,01 та 1,62 рази відповідно. Внаслідок зростання $CD8^+$ -лімфоцитів індекс диференціації в імунізованої птиці зменшувався, порівняно з контрольною групою, що свідчить про наявність Т-клітинного імунодефіцитного стану хелперного типу за відносним гіперцитотоксичним варіантом та вказує на посилену роботу імунної системи організму для знищення чужорідного антигену.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі, із застосуванням комплексних методів досліджень, з'ясовано морфоцитохімічну архітекtonіку органів і тканин у клінічно здорових курей та за інфекційного бронхіту. Експериментально обґрунтовано застосування схем вакцинопрофілактики, що доведено морфологічною перебудовою тимуса, клоакальної сумки, селезінки, гардерової залози, сліпокишкових мигдаликів, легень, печінки, нирок вакцинованих курей 8, 20, 40, 90 та 110-добового віку. Для корекції імунного статусу дослідних курей запропоновано доцільність застосування імуномодулятора Авесстим™. Визначено кластери диференціації лімфоцитів ($CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$, $CD20^+$), їх локалізацію та щільність розміщення у тимусі, клоакальній сумці, селезінці, сліпокишкових мигдаликах і гардеровій залозі клінічно здорових курей, після вакцинації та за інфекційного бронхіту і, як наслідок, визначена роль певних кластерів на різних етапах формування імунітету.

1. На ранніх етапах мікроскопічного рівня структурної організації у селезінці та сліпокишкових мигдаликах клінічно здорових курей до 20-добового, в гардеровій залозі до 40-добового віку лімфоїдні вузлики не сформовані. З розвитком організму продовжується та удосконалюється їх морфогенез, вони збільшуються у розмірах та набувають функціональної зрілості.

2. У міру розвитку вікової фізіологічної інволюції в органах імуногенезу (тимусі, клоакальній сумці, гардеровій залозі та сліпокишкових мигдаликах) клінічно здорової птиці сполучнотканинні прошарки більш розвинені та інфільтровані гранулоцитами, лімфоцитами, макрофагами і плазматичними клітинами. Щільність та співвідношення клітинних елементів лімфоїдної тканини різна, залежно від функціонального стану імунної системи та віку курей: із збільшенням онтогенетичного віку досліджуваних тварин (після 110-добового віку) розміри лімфоїдних вузликів у клоакальній сумці, гардеровій залозі та сліпокишкових мигдаликах зменшуються, що свідчить про початок розвитку інволюційних процесів.

3. Локалізація та щільність розміщення лімфоцитів з маркерами $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$ та $CD20^+$ в органах імуногенезу залежать від віку курей: у тимусі найбільше таких клітин виявляють у мозковій речовині часточок; у клоакальній сумці – у часточках; селезінці – у періартеріальних та періеліпсоїдних лімфоїдних піввах; сліпокишкових мигдаликах – у лімфоїдних вузликах і дифузній лімфоїдній тканині. У клітинному складі тимуса, селезінки, гардеровій залозі та сліпокишкових мигдаликах на ранніх етапах постнатального періоду онтогенезу клінічно здорових курей домінують Т-лімфоцити з маркерами $CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RA^+$ над В-лімфоцитами з маркерами $CD20^+$. Їх кількість та щільність розміщення з віком курей зростає. При цьому у тимусі клінічно здорових курей 8 та 20-добового віку лімфоцитів з маркерами $CD20^+$ не виявлено.

4. Ураження органів за інфекційного бронхіту курей має системний характер і проявляється залежно від віку птиці та форми захворювання: за респіраторної форми найбільше вражаються легені у курей 20-добового віку; за нефрозо-

нефритної форми – нирки у 40, 90-добовому віці; за ураження органів імуногенезу перші ознаки впливу збудника інфекційного бронхіту виявляють у 20-добовому віці.

5. За респіраторної форми інфекційного бронхіту мікроскопічні зміни в легенях курей проявляються гіперемією та набряком строми. В просвіті парабронхів відмічають наявність десквамованого епітелію, лімфоцитів та слизово-серозного ексудату. Зустрічаються великі ділянки ателектазу, які межують з ділянками компенсаторної емфіземи.

6. У нирках курей за інфекційного бронхіту реєструються гіперемія та крововиливи, зерниста дистрофія, некроз і десквамація клітин епітелію канальців, у просвіті яких накопичуються білкова маса. Капілярні сплетення судинних клубочків кровонаповнені. Морфометричними дослідженнями встановлено зменшення середнього об'єму та кількості ниркових тілець, показники яких найбільш виражені у хворих курей 40-добового віку, за нефрозо-нефритної форми щодо клінічно здорових, відповідно, з $49,89 \pm 1,11$ до $46,16 \pm 0,68$ тис. $\mu\text{м}^3$ ($p < 0,05$) та з $20,72 \pm 0,42$ до $18,95 \pm 0,23$ шт. ($p < 0,05$).

7. Розвиток інфекційного процесу за інфекційного бронхіту курей проявляється змінами мікроскопічної будови печінки, що виражається зернистою дистрофією й руйнуванням гепатоцитів, а також інфільтрацією паренхіми органу лейкоцитами.

8. Найбільш виражені зміни у тимусі курей за інфекційного бронхіту проявляються у курей 90-добового віку за нефрозо-нефритної форми з домінуванням розвитку інфекційного процесу. При цьому відбуваються регресивні зміни тимуса, які характеризуються зменшенням розмірів його часточок, проліферацією клітин мозкової речовини, полікістозом та вогнищевими крововиливами, що вказує на посилений розвиток інволюційних процесів у тимусі хворих курей.

9. У клоакальній сумці курей 90-добового віку за нефрозо-нефритної форми інфекційного бронхіту відбувається атрезія часточок, розрідження лімфоїдних елементів за відсутності чіткої межі між мозковою і кірковою речовинами. На місці мозкової речовини часточок утворюються залозисті структури та кістозні порожнини, розростається міжчасточкова сполучна тканина.

10. У селезінці, гардеровій залозі, сліпокишкових мигдаликах хворих курей виражені зміни у більшості випадків відбуваються у 40 та 90-добовому віці та проявляються гіпоплазією і згладженням межі лімфоїдних вузликів, розростанням сполучної тканини та інфільтрацією паренхіми лімфоїдними клітинами. Внаслідок таких процесів площа білої пульпи селезінки та діаметра лімфоїдних вузликів сліпокишкових мигдаликів зменшується.

11. У хворих курей в органах імуногенезу та кровотворення відбувається формування клітинного імунітету, про що свідчить збільшення кількості клітин з маркерами CD4^+ та CD8^+ , а також активізація гуморального типу імунної реакції, на що вказує значне збільшення кількості лімфоцитів з маркерами CD20^+ . Притому, у тимусі хворих курей 40 та 90-добового віку за нефрозо-нефритної форми ІБ спостерігали вірогідне ($p < 0,001$) зростання кількості лімфоцитів з

маркерами CD8⁺ у 2,08 та 2,28 рази відповідно, порівняно з клінічно здоровими. Водночас відбувається зниження імунорегуляторного індексу, що супроводжується активним функціонуванням імунної системи організму на знищення чужорідного антигену.

12. Імунізація вакцинами (живою ліофілізованою – штам Н-120, живою ліофілізованою – штам 4-91 та інактивованою вакциною ІБ/ХН/СЗН) молодняку курей проти інфекційного бронхіту супроводжується морфологічною перебудовою органів імуногенезу, яка проявляється гіперплазією лімфоїдних структур, макрофагальною і плазмоцитарною реакцією, активізацією ендотелію судин мікроциркуляторного русла, проліферацією лімфоцитів кіркової речовини тимуса та клоакальної сумки, що сприяє посиленню активності імунітету проти інфекційного бронхіту.

13. Застосування імуномодулятора Авесстим™ щойно вилупленим курчатам в умовах інкубаторію – аерозольно, потім шляхом випоювання із розрахунку 10 мл на 1 літр води (1:1000), за дві до та дві доби після вакцинації стимулює розвиток імунних утворень, що проявляється збільшенням кількості та розмірів лімфоїдних вузликів у периферичних органах імуногенезу, сповільнює процеси інволюції клоакальної сумки, впливає на зростання площі кіркової речовини в тимусі, кількості тимусних тілець у часточці та індексу кори, про що свідчать наші морфометричні дослідження.

14. У вакцинованих проти інфекційного бронхіту курей відбувається посилення активності гуморального імунітету, яка характеризується зростанням В-лімфоцитів з маркерами CD20⁺ у тимусі, клоакальній сумці, селезінці, сліпокишкових мигдаликах та гардеровій залозі. Так, субпопуляції CD20⁺-лімфоцитів у клоакальній сумці вакцинованих курей 40-добового віку вірогідно ($p < 0,001$) зростають з $127,61 \pm 8,19$ шт. у контрольних тварин до $211,94 \pm 14,28$ шт. – в імунізованих. Відмічено активізацію клітинного імунітету через активне зростання Т-цитотоксичних клітин і нормальних Т-кілерів з маркерами CD8⁺.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. За матеріалами дисертаційної роботи розроблені методичні рекомендації: «Особливості відбору, транспортування і зберігання патологічного матеріалу для різних видів досліджень», «Вакцинопрофілактика інфекційного бронхіту курей», «Патоморфологічна діагностика інфекційного бронхіту курей».

2. Особливості морфогенезу органів імуногенезу та кровотворення можуть бути використані для моніторингу імунного статусу курей у ранні періоди онтогенезу, і, зокрема, під час проведення життєвої та посмертної діагностики інфекційного бронхіту курей, профілактичних і лікувальних заходів та встановлення механізму дії імуномодулюючих біологічних препаратів.

3. Для корекції існуючих програм імунізацій і розробки нових схем специфічної вакцинопрофілактики інфекційних захворювань ветеринарним фахівцям промислових птахофабрик і науково-виробничих ветеринарних

лабораторій рекомендуємо проводити оцінку імунного статусу сільськогосподарської птиці на основі гістологічного, морфометричного, імуногістохімічного аналізів органів імуногенезу.

4. Для стимуляції розвитку імунних утворень в органах кровотворення та імуногенезу, під час проведення профілактичних заходів, рекомендуємо використовувати імуномодулятор Авесстим[™].

5. Матеріали дисертаційної роботи рекомендуємо до використання у навчальному процесі для студентів ветеринарних, біологічних і технологічних спеціальностей; під час написання навчальних посібників, підручників і наукових монографій з вікової та експериментальної морфології й імунології свійських птахів та проведення науково-дослідних робіт з вивчення впливу імунотропних препаратів на організм птиці.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці опубліковані у фахових виданнях:

1. **Гуральська С.В.** Морфологічні особливості органів сечовиділення у курей. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. 2009. Т. 11, № 3 (42), ч. 2. С. 54–58.
2. Гісто- та цитологічні показники селезінки свійських тварин / **Гуральська С.В.**, Колеснік Н.Л., Кропивницький Ф.І. та ін. Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2010. Вип. 151, ч. 3. С. 49–53. *(Здобувач брала участь у проведенні морфологічних досліджень селезінки курей, узагальненні отриманих результатів і написанні статті).*
3. **Гуральська С.В.** Морфологія селезінки курей кросу хайсекс, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2011. Вип. 167, ч. 2. С. 82–85.
4. **Гуральська С.В.** Морфологія клоакальної сумки курей кросу «Хайсекс», вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Наукові праці Полтавської державної аграрної академії. Сер. Ветеринарна медицина. 2011. Вип. 3. С. 28–31.
5. Горальський Л.П., **Гуральська С.В.** Патоморфологія органів сечовиділення у курей при інфекційному бронхіті. Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. 2012. Вип. 172, ч. 3. С. 66–71. *(Здобувач брала участь у проведенні експериментальних досліджень, узагальненні отриманих результатів і написанні статті).*
6. **Гуральська С.В.**, Демус Н.В. Морфологія селезінки свійських тварин. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького. 2011. Т. 13, № 4 (50), ч. 2. С. 54–57. *(Здобувач брала участь у морфологічних дослідженнях селезінки курей, узагальнила отримані дані, готувала статтю до друку).*

7. **Гуральська С.В.** Морфологічні зміни нирок у курей при інфекційному бронхіті. Науковий вісник Луганського національного аграрного університету. Сер. Ветеринарні науки. 2012. № 40. С. 54–57.
8. **Гуральська С.В.** Морфологія тимуса та клоакальної сумки курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. 2012. № 1 (32), т. 3, ч. 2. С. 271–274.
9. Горальський Л.П., **Гуральська С.В.** Морфологічні зміни органів сечовиділення у курей при інфекційному бронхіті. Аграрний вісник Причорномор'я. Сер. Ветеринарні науки. 2012. Вип. 64. С. 55–59. *(Здобувач брала участь у дослідженнях, узагальнила отримані дані, готувала статтю до друку).*
10. **Гуральська С.В.** Морфологія Гардерової залози курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. 2013. Т. 15, № 3 (57), ч. 2. С. 59–62.
11. **Гуральська С.В.**, Горальський Л.П. Імуноморфогенез у курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. 2013. № 2 (38), т. 1. С. 90–93. *(Здобувач виконала експериментальну частину роботи, статистичне опрацювання результатів та оформлення статті).*
12. **Гуральська С.В.**, Горальський Л.П. Патоморфологія органів дихання у курей при інфекційному бронхіті. Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Ветеринарна медицина». 2013. № 97. С. 284–286. *(Здобувач виконала експериментальну частину роботи, статистичне опрацювання результатів та оформлення статті).*
13. **Гуральська С.В.** Патоморфологія легень у курей при інфекційному бронхіті. Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. 2013. № 1 (36), т. 1. С. 179–183.
14. **Гуральська С.В.** Вплив вакцинації проти інфекційного бронхіту на живу масу курчат і абсолютну масу органів кровотворення та імуногенезу. Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць Харківської зооветеринарної академії. Сер. Ветеринарна медицина. 2014. Вип. 28, ч. 2. С. 565–567.
15. **Гуральська С.В.**, Горальський Л.П., Горальська І.Ю. Мікроскопічна будова та морфометричні показники печінки домашніх тварин. Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. 2014. № 2 (42), т. 1. С. 160–164. *(Здобувач брала участь у дослідженнях печінки курей, узагальнила отримані дані, готувала статтю до друку).*
16. **Гуральська С.В.** Морфологія лімфоїдних утворень курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: Збірник наукових праць Харківської зооветеринарної академії. Сер. Ветеринарна медицина. 2015. Вип. 30, ч. 2. С. 394–396.
17. **Гуральська С.В.**, Горальський Л.П. Імуногістохімічна характеристика субпопуляцій лімфоцитів у клоакальній сумці курей за інфекційного бронхіту. Вісник Житомирського національного агроекологічного університету. 2017. № 1

(60), т. 3. С. 194–200. *(Здобувач виконала експериментальну частину роботи, статистичне опрацювання результатів та оформлення статті).*

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

18. **Гуральская С.В.**, Горальський Л.П. Морфология лёгких цыплят кросса хайсекс браун. Учёные записки Витебской гос. акад. вет. медицины. 2013. Т. 49, вып. 1, ч. 1. С. 21–23. *(Здобувач виконала експериментальну частину роботи, статистичне опрацювання результатів та оформлення статті).*

19. **Гуральская С.В.**, Горальський Л.П. Гистоморфология и морфометрические параметры печени домашних животных. Учёные записки Витебской гос. акад. вет. медицины. 2014. Т. 50, вып. 2, ч. 1. С. 144–148. *(Здобувач брала участь у дослідженнях печінки курей, узагальнила отримані дані, готувала статтю до друку).*

20. **Гуральська С.В.** Морфологічні зміни органів кровотворення та імуногенезу курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. Сер. Ветеринарна медицина, якість і безпека продукції тваринництва. – 2015. Вип. 217, ч. 1. С. 47–52.

21. **Гуральська С.В.** Імуногістохімічна характеристика субпопуляцій лімфоцитів у селезінці курей при вакцинації їх проти інфекційного бронхіту. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С.З. Гжицького. 2016. Т. 16, № 3 (70). С. 62–66.

Патенти України:

22. Патент України на корисну модель № 83269. Спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот / Л.П. Горальський, І.М. Сокульський, **С.В. Гуральська**, Н.Л. Колеснік; заявник і власник Житомирський національний агроекологічний університет. – № u2013 04756; заявка 15.04.2013; опубл. 27.08.2013, Бюл. № 16. *(Здобувач брала участь у дослідженнях, розробці принципу корисної моделі, брала участь у підготовці матеріалів до патентування).*

23. Патент України на винахід № 105982. Спосіб виготовлення гістологічних зрізів для виявлення нуклеїнових кислот / Л.П. Горальський, І.М. Сокульський, **С.В. Гуральська**, Н.Л. Колеснік; заявник і власник Житомирський національний агроекологічний університет. – № a2013 03111; заявка 14.03.2013; опубл. 10.07.2014, Бюл. № 13. *(Здобувач брала участь у проведенні досліджень, аналізувала отримані результати, брала участь у підготовці матеріалів до патентування).*

Монографія:

24. **Гуральська С.В.**, Горальський Л.П. Морфологія та імуногістохімія органів кровотворення та імуногенезу курей за інфекційного бронхіту та при вакцинації: Монографія. Житомир: Полісся, 2017. 240 с. *(Здобувач брала участь у підготовці і редагуванні монографії).*

Посібники:

25. Анатомія свійських птахів: Навчальний посібник / Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кот Т.Ф., **Гуральська С.В.** Житомир: Полісся, 2011. 252 с. *(Здобувач брала участь у підготовці і редагуванні посібника).*

26. Анатомія свійських птахів: Навчальний посібник / Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кот Т.Ф., **Гуральська С.В.** Вид. 2-ге. Житомир: Полісся, 2014. 248 с. *(Здобувач брала участь у підготовці і редагуванні посібника).*

Методичні рекомендації:

27. Особливості відбору, транспортування і зберігання патологічного матеріалу для різних видів досліджень: Методичні рекомендації / Панікар І.І., Горальський Л.П., **Гуральська С.В.**, Костюк В.К. Полтава, 2015. 14 с. *(Здобувач брала участь у написанні рекомендацій).*

28. **Гуральська С.В.**, Горальський Л.П., Костюк В.К. Патоморфологічна діагностика інфекційного бронхіту курей: Методичні рекомендації. Житомир, 2017. 27 с. *(Здобувач брала участь у проведенні експериментальних досліджень і написанні рекомендацій).*

29. **Гуральська С.В.**, Горальський Л.П., Костюк В.К. Вакцинопрофілактика інфекційного бронхіту курей: Методичні рекомендації. Житомир, 2017. 33 с. *(Здобувач брала участь у проведенні експериментальних досліджень і написанні рекомендацій).*

Матеріали наукових конференцій та статті апробаційного характеру:

30. **Гуральська С.В.**, Кот Т.Ф. Морфологічні особливості нирок у курей. Матеріали наукового конгресу «IV міжнародні Пироговські читання» присвяченого 200-річчю з дня народження М.І. Пирогова. Вінниця, 2010. С. 28–29. *(Дисертант брала участь у дослідженнях, узагальненні отриманих результатів та виступала з доповіддю).*

31. Органометричні показники органів у курей / Горальський Л.П., **Гуральська С.В.**, Колеснік Н.Л. та ін. Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: Труды государственного учреждения «Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского». 2010. Т. 146, ч. 6. С. 83. *(Дисертант брала*

участь у дослідженнях, узагальненні отриманих результатів та виступала з доповіддю).

32. **Гуральська С.В.** Морфологічні особливості селезінки у курей. Матеріали наук.-практ. конференції викладачів, аспірантів, магістрів та студентів. Житомир, 2010. С. 37–39.

33. **Гуральська С.В.** Морфометрія тимуса курей кросу «Хайсекс», вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Становлення сучасної ветеринарної медицини в науці: Матеріали наук.-практ. інтернет-конференції. Тернопіль, 2011. С. 53–54.

34. **Гуральська С.В.,** Горальський Л.П. Морфологічна характеристика тимуса курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіта. Молоді вчені у вирішенні проблем виробництва і переробки продукції тваринництва: Матеріали всеукраїнської наук.-практ. конференції. Вінниця, 2011. С. 115–116. *(Дисертант брала участь у дослідженнях, узагальненні отриманих результатів та виступала з доповіддю).*

35. **Гуральська С.В.** Морфологічні особливості нирок у курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Сучасні проблеми живлення тварин, технології кормів та шляхи їх вирішення: Тези доп. II міжнар. наук.-практ. конф. Житомир: ЖНАЕУ, 2012. С. 77–78.

36. **Гуральская С.В.,** Горальський Л.П. Морфология селезёнки цыплят при вакцинации против инфекционного бронхита. Современные технологии сельскохозяйственного производства: Материалы XV междунар. науч.-практ. конф. Гродно: ГГАУ, 2012. Ч. 1. С. 357–358. *(Здобувач провела аналіз літературних джерел, брала участь у дослідженнях, узагальненні отриманих результатів, підготовці наукової доповіді до друку).*

37. **Гуральська С.В.** Морфологія органів імуногенезу у курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Молоді вчені у вирішенні проблем тваринництва та ветеринарії: Матеріали першої науково-практичної конференції. Житомир, 2014. С. 13–17.

38. **Гуральська С.В.** Патоморфологічні зміни органів курей при інфекційному бронхіті. Молоді вчені у вирішенні проблем тваринництва та ветеринарії: Матеріали другої науково-практичної конференції. Житомир, 2015. С. 22–24.

39. **Гуральская С.В.** Морфология лёгких цыплят при вакцинации против инфекционного бронхита. Современные технологии сельскохозяйственного производства: Материалы XVIII междунар. науч.-практ. конф. Гродно: ГГАУ, 2015. С. 186–187.

40. **Гуральська С.В.** Динаміка змін субпопуляції лімфоцитів з поверхневим маркером CD4⁺ та CD8⁺ у тимусі курей при інфекційному бронхіті. Біологія тварин. 2016. Т. 18, № 3. С. 133.

41. **Гуральська С.В.** Гісто- та цитологічні показники печінки курей при вакцинації їх проти інфекційного бронхіту. Сборник публикаций мультидисциплинарного научного журнала «Архивариус» по материалам V междунар. науч.-практ. конф. «Наука в современном мире». К., 2016. С. 14–18.

42. **Гуральська С.В.** Вплив «Авесстим™» на морфометричні показники тимуса курей, вакцинованих проти інфекційного бронхіту. Модернізація національної

системи управління державним розвитком: виклики і перспективи: Матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції. Тернопіль, 2016. Ч. 1. С. 108–110.

43. **Гуральська С.В.** Гістоархітектоніка нирок курей при вакцинації проти інфекційного бронхіту. Наука в епоху дисбалансів: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. К.: Центр наукових публікацій, 2016. С. 78–82.

44. **Гуральская С.В.** Иммуногистохимическая характеристика субпопуляций лимфоцитов в тимусе кур при вакцинации их против инфекционного бронхита. Инфекционные болезни животных и антимикробные средства: Материалы междунар. науч.-практ. конф. / ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ им. Н. И. Вавилова», ФГБНУ «Саратовский НИВИ». Саратов, 2016. С. 89–93.

АНОТАЦІЯ

Гуральська С. В. Інфекційний бронхіт курей (патоморфологія та обґрунтування засобів профілактики). – 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, 2017.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню особливостей морфофункціонального стану органів курей за інфекційного бронхіту та при вакцинації на органному, тканинному і клітинному рівнях структурної організації із застосуванням морфологічних, гістохімічних, імуногістохімічних та морфометричних методів. На основі отриманих результатів одержано дані про структуру, закономірності росту й розвитку центральних і периферичних органів кровотворення та імуногенезу курей, які свідчать про незавершеність їхнього морфогенезу в ранньому періоді постнатального онтогенезу, що необхідно враховувати під час складання програм вакцинопрофілактики. Дано оцінку морфологічних та імуногістохімічних змін органів курей за інфекційного бронхіту, характер прояву яких найбільш виражений у хворих особин 20 та 40-добового віку.

Висвітлено поствакцинальні зміни гістоархітектоніки та морфометричних показників в органах дослідних курей, які мали пряме відношення до кратності вакцинації та були зумовлені віковими особливостями дослідних тварин у постнатальному періоді онтогенезу.

Доведено доцільність застосування імуномодулятора Авесстим™, який сприяє формуванню активності імунітету проти ІБК, не спричиняючи при цьому побічних ефектів, а навпаки стимулює розвиток імунних утворень, що проявляється збільшенням кількості та розмірів лімфоїдних вузликів в периферичних органах імуногенезу, сповільнює процеси інволюції клоакальної сумки, впливає на зростання площі кіркової речовини в тимусі, кількості тимусних тілець у часточці та індексу кори.

Визначено потенціальні можливості імуногістохімії як чутливого і точного методу оцінки стану клітинного (Т-хелперних лімфоцитів, Т-цитотоксичних

клітин і нормальних Т-кілерів) та гуморального (В-лімфоцитів) імунитетів і, як наслідок, отримано нові дані про склад кластерів диференціації в органах кровотворення та імуногенезу курей різного віку, зміни їх у разі захворювання та імунізації проти інфекційного бронхіту.

Ключові слова: інфекційний бронхіт, вакцинація, імуномодулятори, кури, тимус, клоакальна сумка, селезінка, гардерова залоза, сліпокишкові мигдалики, легені, нирки, печінка, морфологія, імуногістохімія, морфометричні дослідження.

АННОТАЦІЯ

Гуральская С. В. Инфекционный бронхит кур (патоморфология и обоснование средств профилактики). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание учёной степени доктора ветеринарных наук по специальности 16.00.02 – патология, онкология и морфология животных. – Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. З. Гжицкого, Львов, 2017.

Диссертация посвящена исследованию особенностей морфофункционального состояния органов кур при инфекционном бронхите и вакцинации на органном, тканевом и клеточном уровнях структурной организации с применением морфологических, гистохимических, иммуногистохимических и морфометрических методов. На основании результатов исследования получены данные о структуре, закономерности роста и развития центральных и периферических органов кроветворения и иммуногенеза кур, которые свидетельствуют о незавершенности их морфогенеза в раннем периоде постнатального онтогенеза, что необходимо учитывать при составлении программ вакцинопрофилактики. Дана оценка морфологических и иммуногистохимических изменений органов кур при инфекционном бронхите, характер проявления которых наиболее выражен у больных кур 20 и 40-суточного возраста.

Освещены поствакцинальные изменения гистоархитектоники и морфометрических показателей в органах исследовательских кур, которые имели прямое отношение к кратности вакцинации и были обусловлены возрастными особенностями подопытных животных в постнатальном периоде онтогенеза.

Доказана целесообразность применения иммуномодулятора Авесстим™, который способствует формированию активности иммунитета против ИБК, не вызывая при этом побочных эффектов, а наоборот стимулирует развитие иммунных образований, проявляется увеличением количества и размеров лимфоидных узелков в периферических органах иммуногенеза, замедляет процессы инволюции клоакальной сумки, влияет на рост площади коры в тимусе, количества тимусных телец в дольке и индекса коры.

Определены потенциальные возможности иммуногистохимии как чувствительного и точного метода оценки состояния клеточного (Т-лимфоцитов лимфоцитов, Т-цитотоксических клеток и нормальных Т-киллеров) и гуморального (В-лимфоцитов) иммунитетов и, как следствие, получены новые данные о составе кластеров дифференциации в органах кроветворения

иммуногенеза кур разного возраста, изменении их при заболевании и иммунизации против инфекционного бронхита.

Ключевые слова: инфекционный бронхит, вакцинация, иммуномодуляторы, куры, тимус, клоакальная сумка, селезенка, гардерова железа, слепки кишечные миндалины, легкие, почки, печень, морфология, иммуногистохимия, морфометрические исследования.

SUMMARY

Guralska S. V. Infectious bronchitis of chickens (pathomorphology and study of the means of prevention). – The manuscript.

The thesis on the scientific degree of the doctor of the veterinary science by specialty 16.00.02 – the pathology, oncology, morphology of the animals. – Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytsky, Lviv, 2017.

The thesis is devoted to the morphological and functional condition of the organs of chickens with infectious bronchitis and after vaccination.

In the work morphological, histochemical, immunohistochemical and morphometric study of the organs of chickens with infectious bronchitis and vaccination against infectious bronchitis carried out. Information on the structure, laws of growth and development of central and peripheral organs of blood creation and immunogenesis in chickens, which indicate the incompleteness of their morphogenesis in the early period of postnatal ontogenesis, that must be considered when drawing up programmes of vaccination, supplemented. The estimation of structural changes in organs of chickens with infectious bronchitis is made. It is established that the character of the morphological, histological, immunohistochemical and morphometric changes in the organs of chickens with infectious bronchitis is most pronounced at 20 and 40 days age.

Lit post-vaccination changes of histoarchitectonic and morphometric parameters in bodies in research chickens, had a direct bearing on the number of vaccination due to the age of the experimental animals in the postnatal period of ontogenesis. After immunization of chickens against infectious bronchitis in the immune organs of chickens a decrease in the absolute weight of the thymus and cloacales bags in 8, 20 and 40 days age, indicating increased migration of T and b-lymphocytes in peripheral organs of immunogenesis for the implementation of the immune responses was observed. Besides the structural changes in the organs of hemopoiesis and immunogenesis of the research hens (hyperplasia of lymphoid structures, macrophage and plasmocytoma reaction) indicated the formation of cellular and humoral immunity in vaccinated chickens, and the changes in the blood vessels of medium and small caliber associated with fixation of circulating immune complexes in their vascular walls.

It is determined that the use of chickens, with the aim of stimulating action of the immune response humoral immunity, immunomodulator Avastin™ does not cause a negative impact on histoarchitectonic bodies, but on the contrary contributed to improving their functional status. It is shown that the drug improves vaccine-induced

antiviral immune response and how the immune system, promotes the formation of immune activation against IB, without causing side effects, but on the contrary stimulates development of the immune entities, manifested by the increase in the number and size of lymphoid nodules in the peripheral organs of immunogenesis, slows down the process of involution cloacales bags, affecting the growth of the area of the cortex in the thymus, the number of thymus cells in the slice and index.

New data on the composition of the clusters of differentiation in the organs of hemopoiesis and immunogenesis of chickens of different ages, changes in the disease and immunization against infectious bronchitis are received. The number and the specificity of the labeled cells was normal. The potential of immunohistochemistry as a sensitive and accurate method for evaluation of cell (T-cell lymphocytes, T-cytotoxic cells and normal T-killer cells) and humoral (B-lymphocytes) immunities identified. New data on the characteristics of the immunities of infectious bronchitis and after vaccination shows the leading role of the organs of hemopoiesis and immunogenesis in the formation of immunity to infectious bronchitis obtained. Morphometric studies found that vaccinated against infectious bronchitis of chickens, activates humoral immunity, as evidenced by the growth of b lymphocytes marker $CD20^+$ in the thymus, cesspool bag, spleen, cecal tonsils and Garder gland. Thus, a subpopulation of $CD20^+$ lymphocytes in cloacales bag of vaccinated chickens 40 days of age increased from $127,61 \pm 8,19$ PCS from control animals in $211,94 \pm$ pieces of 14,28 ($p < 0,001$) – immunized. However, there have been increased level of cellular immunity, as evidenced by the active growth of T-cytotoxic cells and normal T-killer cells with the marker $CD8^+$.

It is shown that in patients with CD in the organs immunogenesis and hemopoiesis is the development of cellular immunity, as evidenced by the increase in the number of cells with markers of $CD4^+$ and $CD8^+$, and activation of the humoral type immune response, evidenced by a significant increase in the number of lymphocyte markers $CD20^+$. However, the decrease of immunoregulatory index, accompanied by the active functioning of the immune system in the destruction of foreign antigen.

Key words: infectious bronchitis, vaccination, immunomodulators, chickens, thymus, cloacina bag, spleen, Garder gland, cecal tonsil, lungs, kidneys, liver, morphology, immunohistochemistry, and morphometric studies.