

МЕТОДИ РАНЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ХВОРОБИ МАРЕКА

Лівощенко Людмила Павлівна

кандидат ветеринарних наук, доцент
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0002-3735-3091
ludalivoshhenko@gmail.com

Лівощенко Євгенія Михайлівна

кандидат ветеринарних наук, доцент
Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна
ORCID: 0000-0001-5826-4824
evglivoshhenko@gmail.com

Хвороба Марека (ХМ) є значно поширеним лімфопрولیферативним захворюванням переважно курей, але можуть вражатися і інші види птиці. Викликається клітинно-асоційованим герпесвірусом, що належить до підроду Alphaherpesvirinae родини Herpesviridae. ХМ призводить до величезних економічних втрат за рахунок вибравки тушок, втрати продуктивності та якості продукції. Хоча розробка ефективних вакцин і ліній розведення курей, стійких до цієї хвороби, мала величезний успіх, але нові і більш вірулентні штами продовжують з'являтися до сьогодні. Інфікування птиці відбувається в молодому віці переважно до двох недільного віку. Хворі курчата виділяють віру в зовнішнє середовище уже через сім днів, тому рання діагностика ХМ і видалення ураженої птиці має велике значення для підтримки благополуччя стада. Тому метою цього дослідження було вивчення патології хвороби Марека у курей шляхом співвіднесення різних клініко-патологічних змін, таких як клінічні ознаки, макрозміни, цитологічні та патоморфологічні дослідження і визначення доступного методу діагностики для виробників. Гематологічний аналіз показав значне збільшення загальної кількості лейкоцитів у птиці, ураженої ХМ, порівняно зі здоровою птицею. У захворілих курей виявляли пригніченість, анорексію, параліч (кульгавість), сліпоту та вузликкові ураження шкіри. При розтині загиблої птиці виявлені множинні пухлини різного розміру від сірого до жовтого кольору - вузликові ураження вісцеральних органів, печінки, селезінки, легенів, серця, нирок, яєчників і ін. Одностороннє або двостороннє збільшення нервів, особливо сідничних і плечових нервів, з втратою перехресної частини. Цитологічними дослідженнями виявлено лімфоцити з тонким обідком цитоплазми та везикулярним ядром, що мали тонку мережу хроматину та виражений плеоморфізм із підвищеною клітинністю, що свідчить про хворобу Марека. Патоморфологічно в уражених органах спостерігалася інфільтрація плеоморфними, тобто малими, середніми та великими лімфоцитами та лімфобластами. Таким чином, клінічні ознаки поряд з макроскопічними, цитологічними та гістопатологічними дослідженнями пухлинних уражень підозрюваних випадків, можуть вважатися надійними та недорогими засобами для рутинної діагностики ХМ у курей у польових умовах, що сприятиме подальшому вдосконаленню діагностичних методик для ідентифікації і характеристики вірусу.

Ключові слова: хвороба Марека, клінічні ознаки, гістопатологія, лімфоїдні пухлини.

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.1.4>

Вступ. Хвороба Марека (ХМ) є висококонтагіозною онкогенною та нейропатичною хворобою курей, що завдає значних економічних втрат птахівництву в усьому світі і характеризується розвитком CD4+ Т-клітинних лімфом, а також інфільтрацією нервів і вісцеральних органів лімфоцитами.

Це лімфопрولیферативне захворювання курей, спричинене клітинно-асоційованим вірусом герпесу, членом підроду Alphaherpesvirinae родини Herpesviridae (Nazerian K. & Witter R.L. (1970), Calnek & Witter, 1997, Jarosinski K.W., Jarosinski K. W., Tischer B. K. et al. (2006), Nova-Lamperti E. Chana P., Mobillo Paula (2017), Moser B. & Loetsche P. (2001). ХМ становить значну проблему для благополуччя птиці із значними ураженнями тушок птиці, втратою продуктивності та якості продукції, що призводить до високих економічних збитків. ХМ притаманні імуносупресивні властивості, що призводить до підвищення чутливості до інших супутніх інфекцій. Крім того, високоонкогенна природа вірусу хвороби Марека (ВХМ), зокрема механізми захисту та патогенезу, можуть бути використані як чудова модель для вивчення трансформації лімфоцитів та метастазування лімфоїдних пухлин у різних тварин, включаючи людину Luther S.A. & Cyster J.G. (2001), Kaiser P. (2003), Lucendo A.J. Rezende L., Comas C. et al. (2008), Kanehisa M. (2008).

За 30 років з моменту першого виділення ВХМ значно змінився, підвищуючи свою вірулентність, як і змінилися заходи боротьби та профілактики хвороби (Witter, 1998, Bystry R.S. Aluvihare V, A Welch K. et al. (2001), Carvallo F.R. French R., Gilbert-Marcheterre K. et al. (2011), Jud A., Kotur M., Berger C. et al. (2017). Не дивлячись на те, що розробка ефективних вакцин і виведення ліній курей з підвищеною стійкістю до цієї хвороби, мали величезний успіх, але нові і більш вірулентні штами ВХМ продовжують з'являтися до сьогодні (Witter, R.L. (1998); Ding C., Wang L., Marroquin J., Yan J. et al. C. (2008), Abdul-Careem M.F. Read LR, Parvizi P. et al. (2009), Berthault C. Larcher N., Härtle S. et al. (2018). Своєчасна діагностика і ефективні профілактичні заходи мають першорядне значення при цьому захворюванні. Не зважаючи на те, що сучасні

стає як чудова модель для вивчення трансформації лімфоцитів та метастазування лімфоїдних пухлин у різних тварин, включаючи людину Luther S.A. & Cyster J.G. (2001), Kaiser P. (2003), Lucendo A.J. Rezende L., Comas C. et al. (2008), Kanehisa M. (2008).

діагностичні методи, такі як ПЛР, ІФА та імуногістохімія, є швидкими і чутливими, завжди є потреба в простому, недорогому та надійному методі діагностики в польових умовах (Baigent S.J., Nair V. K. & Galludec H.L. (2016)). Морфологічний метод і на даний час вважається хорошим і надійним методом у визначенні ступеня ураження на тканинному рівні та для діагностики пухлинних хвороб (Johnson E.A. (1975), Engel A.T., McDermott M., Wiebe S. et al. (2012), Boodhoo N., Gurung A, Sharif S. & Behboudi S. (2017), Dang L., Teng M., Li H-W. et al. (2017), Jin H. Kong Z, Arslan Mehboob A. et al. (2020), Bavananthasivam J., Astill J., Matsuyama-Kato A. et al. (2021)). На жаль в польових умовах жоден із названих методів з різних причин не може бути використаний. Наші дослідження були направлені на співвідношення різних клініко-патологічних змін, таких як клінічні ознаки, макроскопічні зміни, цитологічні та гістопатологічні дослідження і можливість використання в польових умовах при діагностиці ХМ.

Матеріали та методи. Робота виконувалася в умовах приватних птахоферм Харківської і Сумської областей на птиці породи леггорн і полтавська глиняста. Для гематологічного аналізу було відібрано 10 зразків крові від клінічно хворої птиці. Контролем служили аналогічна кількість зразків крові, що отримані від клінічно здорової птиці. Для проведення фізіолого-біохімічних досліджень кров у індиків відбирали із підкрилової вени до годівлі шприцями об'ємом 5–10 мл і переносили в пробірку. Сироватку крові отримували за загально прийнятою методикою. Гематологічні параметри досліджували за допомогою стандартних методів, таких як гемоглобін (Hb) – ціамідним методом (Кондрахін І.П., Курилов І.В., Малахов А.Г., 1985), еритроцити і лейкоцити – за загально прийнятою методикою (в лічильній камері Горяєва), лейкоцитарна формула обчислювалася шляхом забарвлення мазків крові за Романовським-Гімза.

Для відбору уражених органів і патоморфологічних досліджень використано 62 загиблих курей у віці 20-40 тижнів. Усі органи досліджували на наявність пухлинних утворень і з описом їх розташування, розміру, форми, кольору, консистенції та ін.. Всього відібрано 174 зразка тканин із пухлинними ураженнями різних органів для проведення цитологічних та гістопатологічних

досліджень. Мазки – відбитки із тканин, що мали пухлини, готували за стандартною методикою, описаною Meinkoth та Cowell (2002). Для цитологічного дослідження та аналізу готували мазки - відбитки і фарбували за методом Гімзи. Зразки тканин були зібрані та збережені в 10 % розчині формаліну для патоморфологічних досліджень. Тканини, фіксовані формаліном, обробляли звичайними гістологічними методиками. Парафінізовані зрізи тканини готували товщиною 4-5 мкм, забарвлювали гематоксилін - еозином відповідно до стандартної процедури, описаної Brar et al. (2000). Зафарбовані препарати на предметних стеклах досліджували під мікроскопом.

Результати досліджень. Перші випадки гострої форми ХМ в Україні зареєстровані в кінці 1984 року. Хвороба характеризувалася раптовою появою, а також набряком мозку, що призводило до тимчасового порушення координації (атаксії) руху, часткового або повного паралічу шиї або ніг. Ураження шийного нерва викликало викривлення шиї, в'ялий параліч шиї та скручення голови на бік. При ураженні блукаючого нерву, у птиці виникли проблеми з випорожненням або утрудненням дихання. У курчат в початковій стадії хвороби масові нервові явища типу паралічів швидко проходили. Молодняк переживав протягом 7 – 10 днів. У більш дослого поголів'я в віковій групі 70 – 120 днів реєстрували загибель з явищами ураження нервової системи і лімфоїдними пухлинами у внутрішніх органах. В період першого спалаху ХМ відсоток загиблих від неоплазм значно підвищився (рис. 1).

До захворювання птиці на ХМ рівень пухлинних уражень коливався в межах 2,5 – 4,9 %, то після появи цієї патології відсоток неоплазм значно зріс і коливався в межах від 19,3 (1984) до 34,6 (1986). Також слід зазначити підвищення загибелі птиці з діагнозом дистрофія, із яких значну кількість становили курчата, уражені ХМ.

В цей період значно підвищився рівень загибелі дорослої птиці від неоплазм (рис. 2).

До появи ХМ відсоток неоплазм на поголів'ї дорослих курей коливався в межах 3,8 – 12,9 % від числа загиблих серед інфекційних захворювань. В період спалаху цієї патології і навіть на тлі щепленого поголів'я відсоток неоплазм збільшився в 13,8 рази.

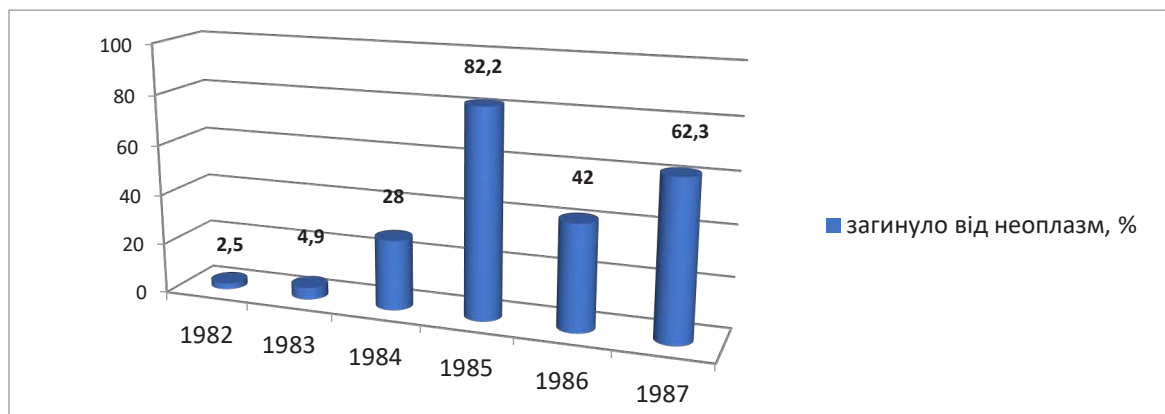


Рис. 1. Загибель курчат від хвороби Марека

Гематологічний аналіз крові курчат 20–40 тижневого віку, отриманих з господарства де птиця мала клінічні ознаки такі, як затримка росту, анемічний гребінь, неврологічні розлади і при патологічному дослідженні загиблої птиці виявлені ураження, характерні для ХМ, показав вірогідне збільшення ($P < 0,05$) лейкоцитів в уражених курчат у порівнянні із здоровою птицею. Суттєвої різниці між середніми значеннями інших гематологічних показників між хворою і здоровою птицею не встановлено. Результати отримані наведені в таблиці 1.

Макроскопічні зміни. При патологоанатомічному дослідженні трупів загиблої птиці виявлено 48 особин з макроскопічними змінами у різних органах. В одинадцяти випадках (22,92 %) пухлинні ураження виявлено значного розміру від сірувато-білого до жовтого кольору в різних вісцеральних органах, таких як печінка, селезінка, нирки, серце, залозистий шлунок, яєчники, легені, а також вузликові ураження шкіри, що характерно для змін при ХМ. Зареєстровано збільшення печінки в 2–3 рази, пульпа її мала пухку консистенцію з дифузно розподіленими дискретними сірувато-білими вузликами різного розміру, кілька вузликів злилися один з одним, утворюючи великі вузли.

Реєстрували зміни і в інших органах. Селезінка була збільшена в 3–4 рази, порівняно з нормальним органом, з дифузним білим або сіруватим забарвленням. Яєчники мали сірувато-білий колір з множинними вузликовими розростаннями у вигляді цвітної капусти та помітно збільшені. Серце бліде, збільшене, в'яле із поодинокими або множинними вузловими пухлинами, в міокарді не виявляли коронарного жиру. Нирки збільшені, бліді та мали точкові білуваті вузлики. Залозистий шлунок потовщений з пухлинним розростанням. Шкірна форма характеризувалася вузликовими ураженнями в основі пір'яних фолікулів. Патоморфологічно досліджено 62 зразки тканин різних уражених органів. Двадцять сім (43,54%) випадків мали ураження, що свідчать про ХМ. При проведенні патоморфологічних досліджень органів, отриманих з печінки, виявлено інфільтрацію поліморфних лімфоїдних клітин, що включали малі, середні і великі лімфоцити, лімфобласти та клітини ретикулу. На кількох ділянках, окрім пухлинних змін, виявлена інфільтрація гетерофілами, некроз, спостерігався також набряк. На зрізах селезінки не зареєстровано чіткого розмежування між нормальними лімфоцитами та неопластичними клітинами, але відзначалося значне потовщення кровоносних судин. Вияв-

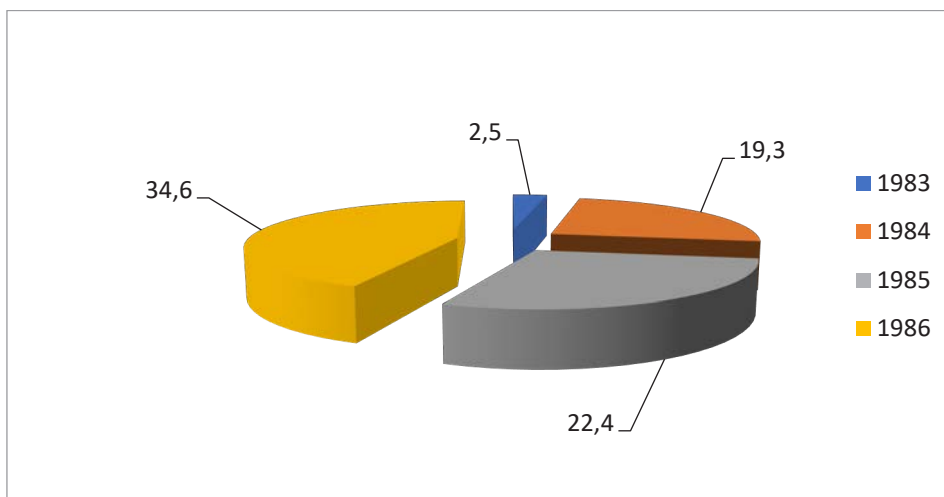


Рис. 2. Загибель курей від хвороби Марєка

Таблиця 1

Гематологічні показники птиці ураженої ВХМ, $M \pm m$, (n=10)

Показники	птиця віком 20–40 тижнів	
	клінічно хвора	клінічно здорова
середній вміст гемоглобіну в еритроциті, пг	33,76 ± 1,38	34,48 ± 1,67
середній об'єм еритроцитів, мкм ³	136,78 ± 1,17	146,84 ± 1,31
загальний об'єм еритроцитів, л/л (гематокрит)	0,317 ± 0,007	0,343 ± 0,009
лейкоцитів Г/л	48,9 ± 1,38	36,42 ± 0,48*
Лейкограма		
лімфоцити (%)	64,85 ± 0,72	61,97 ± 1,42
базофіли (%)	2,10 ± 0,23	2,82 ± 0,36
еозинофіли (%)	2,85 ± 0,31	3,79 ± 0,62
моноцити (%)	2,84 ± 0,31	3,81 ± 0,3,94
гетерофіли (%)	27,36 ± 1,12	27,61 ± 1,83

лено ураження в периферичних нервах, які характеризувалися інфільтрацією поліморфних лімфоїдних клітин, мононуклеарних клітин і плазматичних клітин. У нирках та серці спостерігалися проліферативні лімфоїдні інфільтрації з поліморфізмом. В залозистих шлунках зареєстровано гіперплазію лімфоїдних вузлів і інфільтрацію лімфоїдними клітинами підслизової оболонки. Ураження, що виявлені в яєчниках, характеризувалися інфільтрацією поліморфних лімфоїдних клітин.

При цитологічному дослідженні мазків-відбитків, взятих із пухлинних розростань уражених тканин, виявлені лімфоїдні клітини з тонким обідком цитоплазми та везикулярним ядром, що мали тонку сітку хроматину та виражений поліморфізм. На основі цитологічної оцінки мазків у 24 (38,70%) випадках діагностовано хворобу Марека. У препаратах, виготовлених із шкіри, виявляли набряк, кератинізацію та дискретну лімфоїдну агрегацію у фолікулах пера.

Обговорення. За клінічними ознаками птиця характеризувалася ознаками схуднення, зневодненням, блідими та анемічними гребінцями та сережками. Аналогічні зміни фіксували і інші дослідники, зокрема, Benton WJ & Cover MS. (1957), Ahmed SI. (1982), Sung (2002), Santin (2002), Kalyani IH, Tajpar MM, Jhala MK et al. (2010), Arulmozhi (2011), Xu M, Zhang H, Lee L. et al. (2011), Sung HW. (2002), Musa IW, Bisalla M, Mohammed B. et al. (2015) та Sawale GK, Shelke VM and Kinge GS. (2014). Шкірна форма характеризувалася вузликовими ураженнями в основі пір'яних фолікулів. Про подібний тип змін у органах курей при ураженні ВХМ повідомляли Benton & Cover (1957), Biggs (1973), Ahmed (1982), Panda BK, Arya SC, Pradhan HK & Johri DC. (1983), Kobayashi S, Kobayashi K & Mikami T.(1986), Panneerselvam S, Dorairajan N, Balachandran C. et al. (2013); Kalyani (2006), Kamaldeep (2007), Balachandran et al. (2009), Gopal S., Kathaperumal K., Chidambaram B. (2012) та Swathi B, Kumar, Anand & Reddy MR. (2019).

В цьому дослідженні на основі цитологічної оцінки мазків у 24 (38,70%) випадках діагностовано ХМ. Результати цих досліджень узгоджуються з такими, що отримали Biggs (1973), Stachowiak A.N. Wang Y., Huang Y-C. et al. (2006), Swathi B, Kumar, Anand & Reddy MR. (2019). (2012), Zhang Z. Liu S, Ma C. et al. (2015). На кількох ділянках, окрім пухлинних змін, виявлена інфільтрація гетерофілами, некроз, спостерігався також набряк. Ці результати майже подібні до змін, що описані Benton & Cover (1957), Kamaldeep K., Sharma P., Jindal N. et al. (2007), Balachandran B., Pazhanivel N, Vairamuthu S et al.

(2009), Gopal S., Kathaperumal K., Chidambaram B. et al. (2012) та Swathi B., Kumar C., Anand K. & Reddy M. (2012).

На зрізах селезінки не реєстрували чіткого розмежування між нормальними лімфоцитами та неопластичними клітинами, але відзначали значне потовщення кровоносних судин. Biggs (1973), Robinson C.M. Cheng H.H, Delany M. E. (2014), Schilling M.A., Katani R., Memari S. et al. (2018) стверджували, що проліферативне ураження лімфоїдних залоз характерно для хвороби Марека. Інфільтрацію лімфоїдними клітинами підслизової оболонки виявляли в залозистих шлунках. Про такі зміни повідомляли Smith J., Sadeyen J.R., Paton I.R., et al. (2011), Swathi B, Kumar C., Anand K. & Reddy M. (2012).

Ураження, що спостерігалися в яєчниках, характеризувалися інфільтрацією поліморфних лімфоїдних клітин і відповідали повідомленням Bavananthasivam J. Astill J., Matsuyama-Kato A. et al. (2021), Carvallo FR, French RA, Gilbert-Marcheterre K, et al. (2011), та Swathi B, Kumar C., Anand K. & Reddy M. (2012).

Ураження, що реєструвалися в яєчниках, характеризувалися інфільтрацією поліморфних лімфоїдних клітин і відповідали повідомленням Meinkoth та Cowell (2002), Balachandran et al. (2009), Pradhan and Nayak (2010) та Nova-Lamperti E. Chana P., Mobillo Paula (2017).

У препаратах, виготовлених зі шкіри, виявляли набряк, кератинізацію та дискретну лімфоїдну агрегацію у фолікулах пера. Про подібні спостереження також повідомили Luther S.A. & Cyster J.G. (2001) та Swathi B, Kumar, Anand and Reddy MR. (2019). Подібні ураження також спостерігалися в дванадцятипалій кишці та легенях, що узгоджується з попередніми повідомленнями Stachowiak A.N. Wang Y., Huang Y-C. et al. (2006), Xu M, Zhang H, Lee L. et al. (2011). Carvallo et al. (2011), Tanaka T. Narazaki M, Kishimoto T. (2014).

Висновки. Незважаючи на значний внесок молекулярної біології та вірусології в розробку вакцин, ХМ все ще реєструється в багатьох птахофабриках. В уражених курей реєстрували зниження здатності до розмноження і швидкості росту, втрату апетиту, депресію та рухливість. За даними патологоанатомічного та гістопатологічного дослідження 22,92 % та 43,54% підозрюваних випадків птиці було діагностовано як ХМ відповідно. Існує високий рівень кореляції між цитологічним та гістопатологічним методом діагностики ХМ у птиці. Цитологічне та гістопатологічне дослідження разом із ретельним патологоанатомічним дослідженням може бути вигідно використано для ранньої діагностики та диференціальної діагностики ХМ з іншими пухлинними захворюваннями птиці.

Бібліографічні посилання:

1. Abdul-Careem M.F. Read LR, Parvizi P. et al. (2009). Marek's disease virus-induced expression of cytokine genes in feathers of genetically defined chickens. *Dev Comp Immunol.* 33(4):618-23. doi: 10.1016/j.dci.2008.11.003. Epub 2008 Nov 28. PMID: 19041890.
2. Ahmed SI. (1982). Pathology of spontaneous cases of Marek's disease with special reference to nervous system and experimental studies on some aspects of pathogenesis, PhD Thesis. University of Agricultural Sciences, Hebbal, Bangalore. doi:10.3923/ijps.2007.372.377
3. Baaten B.J. Staines K A, Smith L P, et al. (2009). Early replication in pulmonary B cells after infection with Marek's disease herpesvirus by the respiratory route. *Viral Immunol.* 22 (6):431. doi: 10.1089/vim.2009.0047.

4. Baigent S.J. et al. (2016). Real-time pcr for differential quantification of cvi988 vaccine virus and virulent strains of marek's disease virus. *J. Virol. Methods.* 233:23–36. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.03.002.
5. Balachandran C, Pazhanivel N, Vairamuthu S and MuraliManohar B. (2009). Marek's Disease and Lymphoid Leucosis in Chicken- A Histopathological Survey. *Tamilnadu Journal of Veterinary Animal Science.* 5(4):167-170. DOI:10.5455/ijlr.20190405084024.
6. Berthault C, Larcher N., Härtle S. et al. (2018). Trapp-Fragnet L., Denesvre C. Atrophy of primary lymphoid organs induced by Marek's disease virus during early infection is associated with increased apoptosis, inhibition of cell proliferation and a severe B-lymphopenia. *Vet. Res.* 49:31. doi: 10.1186/s13567-018-0526-x.
7. Benton WJ & Cover MS. (1957). The increased incidence of visceral lymphomatosis in broiler and replacement birds. *Avian Diseases.* 1: 320-327. doi.org/10.2307/1587746.
8. Biggs PM. (1975). Marek's disease—The disease and its prevention by vaccination. *Br. J. Cancer.* 2:152–155. PMC2149595.
9. Boodhoo N., Gurung A, Sharif S. & Behboudi S. (2017) Marek's disease in chickens: A review with focus on immunology. *Vet. Res.* 47:119. doi: 10.1186/s13567-016-0404-3.
10. Bystry R.S. Aluvihare V, A Welch K. et al. (2001). B cells and professional APCs recruit regulatory T cells via CCL4. *Nat. Immunol.* 2:1126–1132. doi: 10.1038/ni735.
11. Carvallo F.R. French R., Gilbert-Marcheterre K. et al. (2011). Mortality of One-Week-Old Chickens during Naturally Occurring Marek's Disease Virus Infection. *Veterinary Pathology.* 48(5): 993-998, doi:10.1177/0300985810395727.
12. Dang L.,Teng M., Li H-W. et al. (2017). Dynamic Changes in the Splenic Transcriptome of Chickens during the Early Infection and Progress of Marek's Disease. *Sci. Rep.* 7:11648. doi: 10.1038/s41598-017-11304-y.
13. Baigent S.J., Nair V. K. & Galludec H.L. (2016). Real-time pcr for differential quantification of cvi988 vaccine virus and virulent strains of Marek's disease virus. *J. Virol. Methods.* 233:23–36. doi: 10.1016/j.jviromet.2016.03.002.
14. Bavananthasivam J, Astill J., Matsuyama-Kato A. et al. (2021). Gut microbiota is associated with protection against Marek's disease virus infection in chickens. *Virology.* 553:122-130. doi: 10.1016/j.virol.2020.10.011.
15. Biggs PM. (1975). Marek's disease—The disease and its prevention by vaccination. *Br. J. Cancer.* 2:152–155. PMC2149595.
16. Ding C., Wang L., Marroquin J., Yan J. et al. C.(2008) Targeting of antigens to B cells augments antigen-specific T-cell responses and breaks immune tolerance to tumor-associated antigen MUC1. *Blood.* 112:2817. doi:10.1182/blood-2008-05-157396.
17. Engel A.T., McDermott M, Wiebe S. et al. (2012) Marek's disease viral interleukin-8 promotes lymphoma formation through targeted recruitment of b cells and cd4+ cd25+ t cells. *j. virol.* 86:8536–8545. doi: 10.1128/jvi.00556-12.
18. Gopal S., Kathaperumal K., Chidambaram B.(2012). Visualization of large RNA molecules in solution. 18(2):284–299. doi:10.1261/ RNA.027557.111.
19. Jarosinski K.W., Jarosinski K. W., Tischer B. K. et al. (2006) Marek's disease virus: Lytic replication, oncogenesis and control. *Expert Rev. Vaccines.* 5:761–772. doi: 10.1586/14760584.5.6.761.
20. Johnson E.A. (1975). Morphogenesis of Marek's disease virus in feather follicle epithelium. *J. Natl. Cancer Inst.* 55:89–99. doi: 10.1093/jnci/55.1.89.
21. Jin H, Kong Z, Arslan Mehboob A. et al. (2020) Transcriptional Profiles Associated with Marek's Disease Virus in Bursa and Spleen Lymphocytes Reveal Contrasting Immune Responses during Early Cytolytic Infection. *Viruses.* 12(3):354. doi: 10.3390/v12030354.PMID: 32210095.
22. Jud A., Kotur M., Berger C. et al. (2017). Tonsillar CD56 bright NKG2A +, NK cells restrict primary Epstein-Barr virus infection in B cells via IFN- γ Oncotarget. 8:6130–6141. doi: 10.18632/oncotarget.14045.
23. Kaiser P. (2003). Differential Cytokine Responses following Marek's Disease Virus Infection of Chickens Differing in Resistance to Marek's Disease. *J. Virol.* 77:762–768. doi: 10.1128/JVI.77.1.762-768.2003.
24. Kanehisa M. (2008). KEGG for linking genomes to life and the environment. *Nucleic Acids Res.* 36:480–484. doi: 10.1093/nar/gkm882.
25. Kalyani IH, Tajpar MM, Jhala MK et al. (2010). Characterization of the ICP4 gene in pathogenic Marek's disease virus of poultry in Gujarat, India, using PCR and sequencing. *Vet. Arhiv.* 80: 683-692. doi: 10.1007/s13337-011-0031-6.
26. Kamaldeep, Sharma P C, Jindal N, et al. (2007). Occurrence of Marek's Disease in Vaccinated Poultry Flocks of Haryana (India). *International Journal of Poultry Science.* 6 (5): 372-377. doi:10.3923/ijps.2007.372.377.
27. Kondrakhin P., N.V. Kurilov, A.G. Malakhov I.M. (1985). *Clinical laboratory diagnostics in veterinary medicine: reference book.* Agropromizdat. 287p.
28. Kobayashi S, Kobayashi K and Mikami T.(1986). A study of Marek's disease in Japanese quails vaccinated with herpes virus of turkeys. *Avian Diseases.* 30: 816-819. doi.org/10.1080/03079459808419292.
29. Lucendo A.J. Rezende L., Comas C. et al. (2008). Treatment with topical steroids downregulates IL-5, eotaxin-1/ CCL11, and eotaxin-3/CCL26 gene expression in eosinophilic esophagitis. *Am. J. Gastroenterol.* 103:2184–2193. doi: 10.1111/j.1572-0241.2008.01937.x.
30. Luther S.A. & Cyster J.G. (2001). Chemokines as regulators of T cell differentiation. *Nat. Immunol.* 2:102–107. doi: 10.1038/84205.
31. Meinkoth та Cowell (2002). Recognition of basic cell types and criteria of malignancy. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice* 32(6):1209-35, doi:10.1016/s0195-5616(02)00048-7.
32. Moser B. & Loetsche P. (2001) Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nat. Immunol.* 2:123–128. doi: 10.1038/84219.
33. Musa IW, Bisalla M, Mohammed B. et al. (2015). Prevalence of Newcastle Disease in Gombe, Northeastern Nigeria: A Ten-Year Retrospective Study. *British Microbiology Research Journal* 6(6):367-375. doi:10.9734/bmrj/2015/15955.

34. Nazerian K. & Witter R.L. (1970). Cell-Free transmission and in vivo replication of Marek's disease virus. *J. Virol.* 5:388–397. doi: 10.1128/JVI.5.3.388-397.1970.
35. Nova-Lamperti E. Chana P., Mobillo Paula (2017). Increased cd40 ligation and reduced bcr signalling leads to higher il-10 production in b cells from tolerant kidney transplant patients. *transplantation. J. Virol* 101:541. doi: 10.1097/tp.0000000000001341.
36. Panda BK, Arya SC, Pradhan HK & Johri DC. (1983). Marek's disease in chicken in various strains of White Leghorn. *Indian Journal of Poultry Science.* 18: 100. doi 10.5455/ijlr.20170720115734
37. Panneerselvam S, Dorairajan N, Balachandran C. et al. (2013). Saponin polymorphism in the Korean wild soybean. *Plant Breeding* 132:121–126. doi:10.1111/pbr.12016.
38. Calnek, B.W. & Witter, R.L. (1997). Marek's disease. In B. W. Calnek, H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald & Y. M. Reid (Eds) *Diseases of Poultry*, 10th edn (pp. 369-413). Ames: Iowa State University Press.
39. Carvallo FR, French RA, Gilbert-Marcheterre K, et al. (2011). Mortality of One-Week-Old Chickens during Naturally Occurring Marek's Disease Virus Infection. *Veterinary Pathology.* 48(5): 993-998. doi:10.1177/0300985810395727.
40. Robinson C.M. Cheng H.H, Delany M. E. (2014). Cheng H.H., Delany M.E. Temporal Kinetics of Marek's Disease Herpesvirus: Integration Occurs Early after Infection in Both B and T Cells. *Cytogenet Genome Res.* 144:142–154. doi: 10.1159/000368379.
41. Sawale GK, Shelke VM. & Kinge GS. (2014). Observation on occurrence of neural form of Marek's disease in desi chickens. *Indian J. Vet. Pathol.* 38(2): 94-97. doi:10.5958/0973-970x.2014.01146.8.
42. Schilling M.A., Katani R., Memari S. et al. (2018). Transcriptional Innate Immune Response of the Developing Chicken Embryo to Newcastle Disease Virus Infection. *Front. Genet.* 9:61. doi: 10.3389/fgene.2018.00061.
43. Singh SD, Barathidasan R, Kumar A. (2012). Recent trends in diagnosis and control of Marek's disease (MD) in poultry. *Pakistan Journal of Biological Science.* 15(20): 964-970. doi:10.3923/pjbs.2012.964.970
44. Smith J., Sadeyen J.R., Paton I.R., et al. (2011). Systems Analysis of Immune Responses in Marek's Disease Virus-Infected Chickens Identifies a Gene Involved in Susceptibility and Highlights a Possible Novel Pathogenicity Mechanism. *J. Virol.* 85:11146–11158. doi: 10.1128/JVI.05499-11.
45. Swathi B, Kumar C., Anand K. & Reddy M. (2019). Lymphoid Leucosis and Marek's Disease In Chicken – Gross and Histopathological Studies. *International Journal of Livestock Researc.* 36(1): 41-48. doi:10.5455/ijlr.20190405084024
- Stachowiak A.N. Wang Y., Huang Y-C. et al. (2006). Homeostatic Lymphoid Chemokines Synergize with Adhesion Ligands to Trigger T and B Lymphocyte Chemokinesis. *J. Immunol.* 177:2340–2348. doi:10.4049/jimmunol.177.4.2340.
46. Sung HW. (2002). Recent increase of Marek's disease in Korea related to virulence increase of virus. *Avian Diseases.* 46(3):517-24. doi:10.1637/0005-2086.046[0517:riomsd]2.0.co;2
47. Swathi B, Kumar, Anand & Reddy MR. (2019). Lymphoid Leucosis and Marek's Disease In Chicken - Gross and Histopathological Studies. *International Journal of Livestock Researc.* 36(1): 41-48. doi:10.5455/ijlr.20190405084024.
48. Tanaka T. Narazaki M, Kishimoto T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 6:a016295. doi: 10.1101/cshperspect.a016295.
49. Witter, R.L. (1998). The changing landscape of Marek's disease. *Avian Pathology* 27, 149-163. doi:10.1080/03079459808419292.
50. Xu M, Zhang H, Lee L. et al. (2011). Gene Expression Profiling in rMd5- and rMd5meq-Infected Chickens. *Avian Diseases.* 55(3): 358-367. doi: 10.1637/9608-120610-reg.1.

Livoshchenko E. M., PhD, Sumy National University, Sumy, Ukraine

Livoshchenko L. P., PhD, Sumy National University, Sumy, Ukraine

Methods of early diagnosis of Marek's disease

Introduction. *Chicken is the most common poultry meat in Ukraine and is one of the basic components of the «consumer basket» - a set of foods that is formed using standards of physiological needs of the human body in food based on their chemical composition and energy value, taking into account WHO recommendations. Infectious diseases, in particular Marek's disease, hinder the development of this industry.*

The purpose of the work. *Our studies focused on the relationship between different clinical and pathological changes, such as clinical signs, macroscopic changes, cytological and histopathological studies and the possibility of use in the field in the diagnosis of MD.*

Materials and methods of research. *The research was carried out in the conditions of private poultry farms on birds of the Leghorn and Poltava clay breeds. Hematological parameters were studied using standard methods, such as hemoglobin (Hb) - cyanide method, erythrocytes and leukocytes - according to the generally accepted method (in Goryaev's counting chamber), leukocyte formula was calculated by staining blood smears according to Romanovsky-Gim. For cytological examination and analysis, smears were prepared - prints and stained by the Giemsa method. Paraffinized tissue sections were prepared with a thickness of 4-5 μm, stained with hematoxylin - eosin according to the standard procedure described by Brar et al. (2000).*

Results of research and discussion. *According to clinical signs, the bird was characterized by signs of weight loss, dehydration, pale and anemic combs and earrings. According to clinical signs, the bird was characterized by signs of weight loss, dehydration, pale and anemic combs and earrings. The skin form was characterized by nodular lesions at the base of the feather follicles. Similar changes have been recorded by other researchers, including Biggs (1973), Swathi B, Kumar, Anand & Reddy MR. (2019). In this study, based on cytological evaluation of smears in 24 (38.70%) cases diagnosed with Marek's disease. The results of these studies are consistent with those obtained by Biggs (1973), Swathi B., Kumar S.,*

Anand K. & Reddy M. (2012). The lesions observed in the internal organs were characterized by infiltration of polymorphic lymphoid cells and corresponded to the reports of Bavananthasivam J. Astill J., Matsuyama-Kato A. et al. (2021).

Conclusions. Cytological and histopathological examination together with thorough pathological examination can be advantageously used for early diagnosis and differential diagnosis of Marek's disease with other tumor diseases of birds.

Key words: Marek's disease, clinical signs, histopathology, lymphoid tumors.