

УДК 615.37:618.1:616:579.887.111:636.2.082.455

ДИНАМИКА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ И ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ВАГИНАЛЬНОГО СЕКРЕТА КОРОВ С ГЕНИТАЛЬНЫМ МИКОПЛАЗМОЗОМ ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В СХЕМУ ЛЕЧЕНИЯ ИММУНОМОДУЛЯТОРА

Васильев Роман Михайлович

Кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры клинической диагностики
ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины
г. Санкт-Петербург, Россия
e-mail: rmvpcrvet@yandex.ru

Аннотация. Эффективное ведение промышленного животноводства в современных условиях предполагает не только достижение максимальной продуктивности животных, но и сохранение их воспроизводительной способности. Реализацию этих задач сдерживают заболевания животных, особенно те, которые характеризуются стертой клинической картиной и продолжительным латентным периодом, одним из которых является генитальный микоплазмоз. В статье представлены результаты изменения иммунобиологических и цитологических характеристик вагинального секрета больных генитальным микоплазмозом коров при использовании для лечения тулатромицина и тулатромицина в комбинации с тималином. Для эксперимента было сформировано три группы стельных коров: первая группа – стельные коровы с генитальным микоплазмозом, для лечения которых использовали антибиотик траксовет 100 (тулатромицин) в дозе 0,0025 г на 1 кг массы тела животного, подкожно, однократно за 40 дней до предполагаемых родов; вторая группа – коровы, для лечения которых использовали антибиотик траксовет 100 в той же дозировке и иммуномодулятор тималин в дозе 0,1 мг на 1 кг массы тела животного, внутримышечно, дважды с интервалом 72 часа; третья группа (контроль) – клинически здоровые стельные коровы. У животных всех групп до начала лечения со стенок влагалища собирали вагинальный секрет. Повторное взятие секрета у первой и второй опытной группы коров проводили через 14 дней после начала лечения. В вагинальном секрете изучали содержание - Ig G, Ig M, Ig A, sIg A, активность лизоцима и определяли его реакцию (рН), дополнительно изготавливали мазок, в котором оценивали содержание эпителиальных клеток и лейкоцитов. Установлено, что применение для лечения коров с генитальным микоплазмозом комбинации тулатромицина и тималина обеспечивает более высокий процент выздоровления, а также способствует наиболее полному восстановлению иммунобиологических и цитологических характеристик вагинального секрета.

Ключевые слова: коровы, микоплазмоз, вагинальный секрет, тулатромицин, тималин, эпителий, лейкоциты, лизоцим, иммуноглобулины, рН.

DYNAMICS OF IMMUNOBIOLOGICAL AND CYTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF VAGINAL SECRETIONS OF COWS WITH GENITAL MYCOPLASMOSIS WHEN AN IMMUNOMODULATOR IS INCLUDED IN THE TREATMENT REGIMEN

Roman M. Vasiliev

Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of Clinical Diagnosis
St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

St. Petersburg, Russia

e-mail: rmvpcrvet@yandex.ru

Abstract. Effective management of industrial animal husbandry in modern conditions assumes not only the achievement of maximum productivity of animals, but also the preservation of their reproductive ability. The implementation of these tasks is hindered by animal diseases, especially those characterized by an erased clinical picture and a long latent period, one of which is genital mycoplasmosis. The article presents the results of changes in the immunobiological and cytological characteristics of vaginal secretions of patients with genital mycoplasmosis of cows when used for the treatment of tulatromycin and tulatromycin in combination with thymalin. Three groups of pregnant cows were formed for the experiment: the first group – pregnant cows with genital mycoplasmosis for the treatment of which the antibiotic traksovet 100 (tulatromycin) was used at a dose of 0.0025 g per 1 kg of animal body weight, subcutaneously, once 40 days before the expected delivery; the second group – cows, for the treatment of which the antibiotic traksovet 100 was used in the same dosage and the immunomodulator timalin at a dose of 0.1 mg per 1 kg of animal body weight, intramuscularly, twice with an interval of 72 hours; the third group (control) – clinically healthy pregnant cows. In animals of all groups, vaginal secretions were collected from the vaginal walls before treatment. Repeated secretion from the first and second experimental group of cows was carried out 14 days after the start of treatment. In vaginal secretions, the content of - Ig G, Ig M, Ig A, sIg A, lysozyme activity were studied and its reaction (pH) was determined, in addition, a smear was made in which the content of epithelial cells and leukocytes was evaluated. It was found that the use of a combination of tulatromycin and thymalin for the treatment of cows with genital mycoplasmosis provides a higher percentage of recovery, and also contributes to the most complete restoration of immunobiological and cytological characteristics of vaginal secretions.

Keywords: cows, mycoplasmosis, vaginal secretions, tulatromycin, thymalin, epithelium, leukocytes, lysozyme, immunoglobulins, pH.

Введение

Эффективное ведение промышленного животноводства в современных условиях предполагает не только обеспечение максимальной продуктивности животных, но и сохранение на высоком уровне их воспроизводительной способности. На функционирование репродуктивной системы оказывает влияние множество факторов, наиболее значимыми из которых являются: условия кормления и содержания животных, метаболические нарушения в организме, заболевания органов половой системы различного генеза [2]. Особенно следует

отметить такие болезни животных, которые характеризуются продолжительным латентным периодом и стертой симптоматикой, что затрудняет их своевременную диагностику и терапию. Кроме того, длительное отсутствие адекватного лечения приводит к развитию в органах половой системы самок необратимых морфофункциональных нарушений, приводящих к их преждевременной выбраковке. Вследствие этого сельскохозяйственные предприятия несут ощутимый экономический ущерб. К группе таких заболеваний относится генитальный микоплазмоз крупного рогатого скота [6]. Благодаря длительному латентному периоду и отсутствию специфических клинических проявлений микоплазмоз часто ускользает от внимания ветеринарных специалистов, что позволяет возбудителю персистировать в стаде, увеличивая число инфицированных животных. По данным некоторых исследователей у животных с микоплазмозом, сохранивших репродуктивную способность, увеличено количество патологических родов и послеродовых осложнений [9].

На сегодняшний день генитальный микоплазмоз крупного рогатого скота зарегистрирован почти во всех странах мира. Данные отечественных и зарубежных ученых демонстрируют значительное распространение микоплазмоза на сельскохозяйственных предприятиях, как молочного, так и мясного направления. Мониторинговые исследования, проведенные на территории РФ, показывают, что генитальный микоплазмоз выявляется у 14-25% коров продуктивного стада [1, 4]. За рубежом инфицирование генитальной микоплазмой в фермерских хозяйствах и животноводческих предприятиях составляет от 9 до 47% поголовья коров, при этом у животных не наблюдаются клинические признаки воспаления половых органов [8, 11].

Ключевая роль в противостоянии внедрению различных возбудителей в слизистую оболочку влагалища принадлежит комплексу защитных механизмов, включающих: вагинальную аутофлору, реакцию вагинального секрета, содержащую в нем иммуноглобулины и лизоцим. С учетом биологии микоплазм, наиболее важным фактором, препятствующим их адгезии к эпителиальным клеткам, являются иммуноглобулины вагинального секрета, среди которых ключевая роль принадлежит иммуноглобулину А (sIg A) [12]. Кроме того, он вызывает активацию системы комплемента, которая нейтрализует биологическую активность возбудителя.

В последние годы в основе этиотропной терапии генитального микоплазмоза лежит применение антибиотиков тетрациклиновой, макролидной, фторхинолоновой групп, однако с течением времени устойчивость микоплазм к некоторым препаратам возрастает [7]. Наибольшую эффективность, по мнению ряда авторов, при генитальном микоплазмозе крупного рогатого скота демонстрируют антибиотики группы макролидов и фторхинолонов [3]. Принимая во внимание, что при

генитальном микоплазмозе у животных развивается иммунодефицит, одна только антибактериальная терапия приводит лишь к частичному восстановлению иммунного статуса, что в последствии приводит к рецидиву болезни. Учитывая, что дисфункции развиваются со стороны различных звеньев иммунной системы, то для их коррекции целесообразно применение иммуностропных препаратов с широким спектром действия, а в частности пептидных регуляторов [5].

Целью исследований стало изучение эффективности включения в схему лечения генитального микоплазмоза крупного рогатого скота пептидного биорегулятора тималина на иммунобиологические и цитологические характеристики вагинального секрета.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились на базе ЗАО «Осьминское» Сланцевского района Ленинградской области на стельных коровах возрастом 3-4 года. Для проведения опыта было сформировано три группы стельных коров, по 8 голов в каждой. Первая группа – стельные коровы с генитальным микоплазмозом, для лечения которых использовали антибиотик траксовет 100 (тулатромицин) в дозе 0,0025 г на 1 кг массы тела животного, подкожно, однократно за 40 дней до предполагаемых родов. Вторая группа - стельные коровы с генитальным микоплазмозом, для лечения которых использовали антибиотик траксовет 100 в дозе 0,0025 г на 1 кг массы тела животного, подкожно, однократно за 40 дней до предполагаемых родов и иммуномодулятор тималин в дозе 0,1 мг на 1 кг массы тела животного, внутримышечно, дважды с интервалом 72 часа. Третья группа (контроль) – клинически здоровые стельные коровы.

Диагностика генитального микоплазмоза у коров проводилась методом ПЦР с электрофоретической детекцией с применением диагностического набора «МИК-КОМ» (для выявления *Mycoplasma spp.*), производства ООО «ИнтерЛабСервис». Серологическая типизация осуществлялась в РНГА – установлена *M. bovis genitalium*. У опытных групп коров через 2 недели после начала лечения проводили контроль эффективности терапии путем проведения повторного ПЦР-теста на *Mycoplasma spp.* До начала терапии у животных всех групп с помощью специальной ложки в области шейки матки с верхней и боковых стенок влагалища собирали вагинальный секрет. Повторное взятие секрета у первой и второй опытной группы коров проводили через 2 недели после начала лечения. В вагинальном секрете определяли содержание - Ig M, Ig G, Ig A, sIg A и их общее количество методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, активность лизоцима нефелометрическим методом по В.Г. Дорофейчуку и определяли его реакцию с помощью тест-системы «Кольпо-тест рН». Кроме того, из вагинального секрета готовили тонкий мазок, окрашивали по Май-Грюнвальду и определяли содержание эпителиальных клеток и лейкоцитов.

Полученный цифровой материал был статистически обработан с использованием компьютерной программы SPSS 22.0.

Результаты исследований и их обсуждение

Проведение повторного ПЦР-теста через 2 недели от начала терапии показало, что в группе животных, для лечения которых использовали траксовет, *Mycoplasma spp.* была выявлена у 2 коров из 8 (эффективность терапии составила 75%); в группе коров, где применяли траксовет в сочетании с тималином, все тесты на *Mycoplasma spp.* были отрицательными (эффективность терапии – 100%). Характеристики вагинального секрета у коров контрольной и подопытных групп представлены в таблице 1.

Таблица 1

Иммунобиологические и цитологические характеристики вагинального секрета больных генитальным микоплазмозом коров при различных схемах лечения

Показатели	Генитальный микоплазмоз			Клинически здоровые коровы
	До лечения	Через 14 дней от начала лечения		
		траксовет	траксовет+тималин	
Ig G, г/л	0,183±0,008	0,2±0,005	0,191±0,008	0,19±0,008
Ig M, г/л	0,054±0,003	0,04±0,003**	0,039±0,002**	0,039±0,003
Ig A, г/л	0,018±0,001	0,022±0,002	0,024±0,001**	0,024±0,003
sIg A, г/л	0,096±0,007	0,063±0,002**	0,067±0,002**	0,067±0,005
Общие Ig, г/л	0,35±0,013	0,32±0,01	0,0321±0,012	0,32±0,011
Активность лизоцима, %	5,86±0,33	8,7±0,18***	11,7±0,22*** P <0,001	11,71±0,41
Реакция (pH)	6,56±0,33	5,29±0,15**	4,62±0,13*** P <0,01	4,65±0,34
Эпителий, в поле зрения	15,5±1,42	9,5±0,89**	8,25±0,86***	5,0±0,71
Лейкоциты, в поле зрения	22,75±1,89	13,25±0,98**	7,75±0,62*** P <0,01	7,12±0,78

* - указан уровень достоверности между показателями до и после лечения (** - P <0,01, *** - P <0,001); P – указан уровень достоверности при сравнении показателей подопытных групп между собой.

Из данных таблицы видно, что концентрация Ig G в вагинальном секрете у больных микоплазмозом коров, как при использовании для лечения антибиотика, так и его комбинации с иммуномодулятором хотя и несколько увеличивалась, но не претерпевала достоверных изменений. Практически аналогичная динамика отмечалась и в отношении Ig A у животных, получавших траксовет. Сочетание траксовета и тималина приводило к достоверному увеличению на 33% данного класса иммуноглобулинов, и оно не отличалось от уровня здоровых коров.

Что касается содержания иммуноглобулина М в вагинальном секрете больных генитальным микоплазмозом коров, то оно достоверно и практически синхронно снижалось в обеих опытных группах и достигало показателей здоровых животных.

Изучение концентрации sIg А показало достоверное ее снижение у коров, которым применяли траксовет, на 34,4%, а у коров, получавших траксовет в сочетании с тималином, на 30,3%.

Одинаковое снижение содержания Ig М у животных подопытных групп можно объяснить элиминацией микоплазм со слизистой оболочки влагалища в результате проведенной антибиотикотерапии. Увеличение концентрации Ig А у коров, которым применяли комбинацию тулатромицина и тималина связано с более быстрым торможением конвертации Ig А в sIg А у этой группы животных [10]. Снижение концентрации в вагинальном секрете sIg А у животных экспериментальных групп происходило пропорционально росту в нем содержания Ig А.

Изучение активности лизоцима в вагинальном секрете показало, что у коров, которым применяли тулатромицин, данный показатель достоверно увеличивался на 48,5%, тогда как в группе, где использовали тулатромицин и тималин, он повышался в 2 раза и достигал значений здоровых животных, причем межгрупповые различия были статистически достоверны. Подобную динамику лизоцимной активности можно объяснить тем, что на фоне применения иммуномодулятора происходит более быстрое торможение иммунологических реакций, в которых он задействован, что и обуславливает восстановление его концентрации до уровня здоровых коров.

У коров с генитальным микоплазмозом наблюдалось смещение рН вагинального секрета в нейтральную сторону. Через 2 недели от начала терапии концентрация водородных ионов в вагинальном секрете у коров, получавших для лечения тулатромицин, достоверно снижалась на 19,4%, а у коров, которым применяли комбинацию тулатромицина и тималина – на 29,6% и не отличалась от таковой у животных контрольной группы. При этом межгрупповые различия имели достоверный характер ($P < 0,01$). Отмеченную динамику можно связать с тем, что при включении в схему лечения иммуномодулятора происходит более быстрое восстановление физико-химических свойств вагинального секрета и количественного состава вагинальной аутофлоры [12].

При изучении мазков вагинального секрета у коров с генитальным микоплазмозом наблюдалось большое количество эпителиальных клеток и лейкоцитов в поле зрения микроскопа. После антибиотикотерапии число эпителиальных клеток снижалось на 38,7%, а лейкоцитов – на 41,8% и отмеченные изменения носили достоверный характер. Более выраженная положительная динамика отмечалась

при сочетанном применении тулатромицина и тималина – снижение количества эпителиальных клеток на 46,8%, лейкоцитов – на 65,9% и они приближались к значениям этих показателей у здоровых коров. Следует отметить, что в группе, где применяли сочетанную терапию, нормализация количества лейкоцитов происходила достоверно активнее, чем при антибиотикотерапии. Более выраженную позитивную динамику цитологических характеристик вагинального секрета в группе коров, получавших для лечения тулатромицин и тималин, можно объяснить быстрой элиминацией воспалительных цитокинов и затуханием воспалительного процесса на фоне применения иммунокорректора.

Заключение

На основании проведенного эксперимента установлено, что в вагинальном секрете коров с генитальным микоплазмозом наблюдаются: количественные изменения в иммуноглобулиновом составе, выраженное снижение активности лизоцима и смещение рН в нейтральную сторону.

Применение для лечения коров с генитальным микоплазмозом антибиотика тулатромицина обеспечивает элиминацию возбудителя из генитального тракта у 75% животных и восстановление в вагинальном секрете до уровня клинически здоровых коров только иммуноглобулинов М и sIg А, а также частичную нормализацию цитологических показателей.

Использование для терапии комбинации тулатромицина и тималина приводит к элиминации микоплазм из генитального тракта у 100% больных коров. При этом в вагинальном секрете происходит восстановление до уровня здоровых животных иммуноглобулинов М, А, sIg А, активности лизоцима и концентрации водородных ионов, а также почти полная нормализация цитологических характеристик.

Список литературы

1. Васильев, Р. М. Влияние терапии тулатромицином на иммунный статус больных микоплазмозом коров и рожденных ими телят / Р. М. Васильев // Международный вестник ветеринарии. – 2023. – № 1. – С. 71-78. - DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.1.71
2. Изменения в динамике гормонов в течение полового цикла у мясного скота калмыцкой породы / Э.А. Альмтаев, Г.С. Никитин, С.П. Перерядкина [и др.] // Современные научные тенденции в ветеринарии: Сборник статей Международной научно-практической конференции, Пенза, 01–02 декабря 2022 года. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2023. – С. 6-9.
3. Красиков, А.П. Микоплазмы человека и животных их эпидемиологическое и эпизоотологическое значение / А.П. Красиков, Н.В. Рудаков. – Омск: ООО ИЦ «Омский научный вестник», 2015. – 717 с.

4. Распространение микоплазмозов крупного рогатого скота на животноводческих фермах в Российской Федерации в период с 2015 по 2018 год. / М. А. Алхуссен, А. А. Нестеров, В. В. Кирпиченко [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2020. №2 (33). С. 102-108. - DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108
5. Хавинсон, В.Х. Мета-анализ иммуномодулирующей активности лекарственного пептидного препарата тималина /В.Х. Хавинсон, А.А. Корнеев, И.Г. Попович // Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики. – 2020. - №4. – С. 108-124. - DOI: 10.24411/2312-2935-2020-00100.
6. Busharova, Ju. V. Humoral factors of protection of the vaginal mucosa in healthy cows and with mycoplasmosis / Ju.V. Busharova, R.M. Vasiliev, S.V. Vasilieva, V.A. Trushkin, A.A. Nikitina, [et al.] // Journal of Animal Science. 2021. Т. 99. № S3. С. 273. - DOI:10.1093/jas/skab235.500
7. Cooper, A.C. In vitro activity of danofloxacin, tylosin and oxytetracycline against mycoplasmas of veterinary importance / A.C. Cooper, J.R. Fuller, M.K. Fuller, P. Whittlestone, D.R. Wise // Research in Veterinary Science. – 1993. – Vol. 54, Issue 3. – P. 329-334. - DOI: 10.1016/0034-5288(93)90130-8
8. Marouf, S. A. Detection of Mycoplasma bovis and Mycoplasma bovigenitalium in cattle and buffalo in Egypt using dot ELISA and PCR with antimicrobial trials. / S. A. Marouf, Kh. F. Mohamed, J. El-Jakee// European J. Biol. Sci. – 2011. Vol. 3, №1. - P. 1–8.
9. Mycoplasma infection in the uterus of early postpartum dairy cows and its relation to dystocia and endometritis / M.E. Ghanem, H. Higuchi, E. Tezuka [et. al.]// Theriogenology. – 2013. Vol.79, №1. – P. 180-185. - DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.09.027
10. Nikitina, A. Comparative assessment of the content of immunoglobulins in the blood serum of calves obtained from healthy cows and cows with genital mycoplasmosis / A. Nikitina, R. Vasiliev, S. Kovalev, V. Trushkin // FASEB Journal. 2022. - Т. 36. № S1. - С. R3467. DOI: 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3467
11. Trichard, C.J. Mycoplasmas recovered from bovine genitalia, aborted fetuses and placentas in the Republic of South Africa. Onderstepoort. /C.J. Trichard, E.P. Jacobsz// J Vet Res. – 1985. Vol. 52, №2. P. 105-110.
12. Vasiliev, R. M. Immuno-biological properties of vaginal discharge in healthy and mycoplasmosis-infected cows / R. M. Vasiliev, S. V. Vasilieva // Medical Immunology (Russia). – 2021. – Vol. 23, No. 4. – P. 987-990. – DOI 10.15789/1563-0625-IBP-2278.