

ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

УДК 619:612.017.1:616-006.446:636.22/.28

**ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
ЛЕЙКОЦИТОВ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
ПРИ ЛЕЙКОЗ-АССОЦИИРОВАННОЙ ИНФЕКЦИИ****С. Т. Байсеитов**, аспирант;**В. С. Власенко**, д-р биол. наук, профессор,

ФГБОУ ВО Омский ГАУ,

Институтская пл., 1, Омск, Россия, 644008

E-mail: vvs-76@list.ru

Аннотация. В настоящей работе приводятся результаты сравнительного исследования функциональной активности нейтрофилов животных при лейкозной инфекции, в том числе при её ассоциации с бруцеллёзом. На начальном этапе исследований было отобрано 50 коров, у которых были выявлены антитела к вирусу лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) сразу в нескольких диагностических тестах: реакции иммунной диффузии (РИД), реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) и иммуноферментном анализе (ИФА). Повторный серологический анализ на наличие антител к ряду возбудителей инфекционных заболеваний показал, что у 80 % животных носительство ВЛКРС сопровождается ассоциацией с бактериальной патологией. В частности, выявлены случаи сочетанного течения лейкозной инфекции с бруцеллёзом (у 46 % коров), хламидиозом (20 %), паратуберкулёзом (12 %), капилобактериозом (8 %) и анаплазмозом (4 %). На заключительном этапе исследований нами были изучены особенности функциональной активности нейтрофилов в тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тест) при течении в сочетании лейкозной и бруцеллёзной инфекции по причине наиболее частого проявления данной ассоциации. С этой целью было отобрано 15 голов крупного рогатого скота, которых разделили на 3 группы: 1-я – здоровые животные (n=5); 2-я – носители ВЛКРС (n=5) и 3-я – одновременно инфицированные бруцеллёзом и ВЛКРС. Установлено, что ассоциированное течение лейкоза и бруцеллёза у отдельных животных сопровождается существенным усилением спонтанной и стимулированной тетразолиевой активности и функционального резерва нейтрофилов, что может являться признаком формирующейся недостаточности антиоксидантной системы.

Ключевые слова: лейкоз, ассоциированные инфекции, НСТ-тест, бруцеллёз, нейтрофилы.

Введение. В структуре инфекционной патологии лейкоз крупного рогатого скота занимает ведущее место не только в Республике Казахстан, но и во многих регионах Российской Федерации и других странах мира [1-5].

Инфекционный процесс при этом заболевании в большинстве случаев развивается при глубоких сбоях в иммунных и обменных процессах и не выходит из стадии бессимптомного носительства возбудителя. Инфицированное вирусом лейкоза крупного рогатого скота

(ВЛКРС) животное становится наиболее восприимчивой мишенью для многочисленных бактериальных и вирусных болезней [6], что в значительной степени осложняет ситуацию из-за разнообразия течения и внесения путаницы, особенно в отношении диагностики и оздоровления стад. Это объясняется, прежде всего, иммунодепрессивным, а в отдельных сочетаниях и иммуностимулирующим эффектом, который вызывается как вирусом лейкоза крупного рогатого скота, так и большинством возбудителей инфекционных болезней [7, 8].

В настоящее время для изучения патологического процесса всё большее значение приобретают тесты, характеризующие ферментную активность иммунокомпетентных клеток, среди которых особенно можно выделить исследование кислородзависимого метаболизма лейкоцитов с помощью реакции с нитросиним тетразолием (НСТ-тест), имеющей общие закономерности с процессом фагоцитоза и раскрывающей его биохимические основы [9].

Недостаточность функционально-метаболической активности нейтрофилов при лейкозе крупного рогатого скота, согласно литературным данным, как правило, характеризуется уменьшением значений стимулированного НСТ-теста относительно показателей спонтанного. Однако в некоторых случаях наблюдается чрезмерное образование активных форм кислорода, что, по мнению авторов, могло быть связано с развитием инфекционно-воспалительных осложнений [10].

В связи с изложенным *целью нашего исследования* стало сравнительное изучение кислородзависимого метаболизма нейтрофилов в НСТ-тесте при лейкозной инфекции, а также при её ассоциации с бактериальным заболеванием.

Методика. Материалом для исследований служила кровь и сыворотка крови от коров красной степной и голштино-фризской породы из различных хозяйств Северо-Казахстанской области Республики Казахстан.

Наличие антител возбудителей инфекционных болезней в сыворотке крови определя-

ли путем постановки реакции непрямой иммунофлуоресценции - РНИФ: лейкоз, бруцеллёз, хламидиоз, анаплазмоз, Ку-лихорадка, кампилобактериоз; иммуноферментного анализа – ИФА (производство компаний ID Vet, Франция и AniGen, Корея): лейкоз, хламидиоз, паратуберкулёз, бруцеллёз; реакции иммунодиффузии в геле агара – РИД (производство ФКП «Курская биофабрика – фирма «Биок», Россия); роз бенгал пробы (РБП), а также реакций агглютинации (РА) и связывания комплемента (РСК) с единым антигеном (производство НПП «Антиген», Казахстан). Все реакции выполнены в соответствии с инструкцией по применению диагностических наборов, для обнаружения специфических антител в сыворотке крови.

Оценка кислородзависимых механизмов бактерицидности нейтрофилов проводилась в НСТ-тесте в спонтанном и стимулированном вариантах фотометрическим способом. Для дополнительной характеристики НСТ-теста рассчитывали функциональный резерв нейтрофилов как отношение стимулированного варианта НСТ к спонтанному [11].

Полученные результаты обрабатывали статистически с определением средних арифметических (M) и расчетом ошибок средних арифметических (m). Для оценки существенности различий между двумя средними величинами M_x и M_y использовали t -критерий Стьюдента. Различие между контролем и опытом считали достоверным только для $P \leq 0,05$.

Результаты. На основании серологических исследований были отобраны 50 проб сыворотки крови крупного рогатого скота, в которых выявлены антитела к вирусу лейкоза одновременно в РИД, РНИФ и ИФА. С целью выявления ассоциативного течения с другими инфекционными заболеваниями биологический материал от носителей ВЛКРС был подвергнут дополнительному диагностическому анализу на бруцеллёз, паратуберкулёз, хламидиоз, анаплазмоз, кампилобактериоз и Ку-лихорадку.

В 40 пробах из 50 определено наличие антител к возбудителям других инфекцион-

ных заболеваний. Так, по результатам комплексного исследования сывороток крови на бруцеллез, включающего проведение РБП, РСК, РА, ИФА и РНИФ, в 19 пробах из 50-и (38 %) выявлены специфические антитела всеми серологическими методами, еще в 3-х случаях было отмечено инфицирование животных только по результатам постановки РБП и РНИФ. Помимо этого, у одной головы зарегистрирована положительная реакция в РА, ИФА и РНИФ.

В сыворотке крови 10-и (20 %) коров, инфицированных ВЛКРС, были зарегистрированы хламидиозные антитела при постановке ИФА и РНИФ. Следует отметить, что положительная реакция выявлена у 4-х животных обоими методами, у других 5-и – в РНИФ и только у одного – с помощью ИФА.

С помощью РНИФ также были обнаружены в 4-х пробах кампилобактериозные и в 2-х пробах анаплазмозные антитела. Кроме того, в 12 % случаев с помощью ИФА выявлено инфицирование животных паратуберкулезом.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно прийти к выводу о том, что на территории Северо-Казахстанской области наибольшее распространение получили случаи одновременного проявления (би-

вариант) бруцеллезной и лейкозной инфекций (46 %).

На следующем этапе были изучены особенности кислородзависимого механизма бактерицидности нейтрофилов у крупного рогатого скота, инфицированного одновременно бруцеллезной и лейкозной инфекциями, по причине наибольшей распространённости данной ассоциации по сравнению с другими.

С этой целью для эксперимента было отобрано 15 коров, в число которых вошло 5 клинически здоровых животных (контроль), 5 носителей ВЛКРС, а также 5 голов с сочетанным течением лейкозной и бруцеллезной инфекций. У всех животных были отобраны пробы крови для исследования функциональной активности нейтрофилов в НСТ-тесте.

Результаты оценки функциональной активности у крупного рогатого скота представлены в таблице.

При постановке НСТ в спонтанном варианте наблюдалась тенденция к усилению кислородзависимого метаболизма, особенно это касалось животных одновременно инфицированных лейкозной и бруцеллезной инфекциями, у которых интенсивность внутриклеточных метаболических возрастала до $0,56 \pm 0,06$ против $0,24 \pm 0,02$ ед.оп.пл. ($P < 0,01$) в группе здоровых животных.

Таблица

Результаты оценки функционально-метаболической активности нейтрофилов в тесте с нитросиним тетразолием у животных при лейкоз-ассоциированной инфекции, $M \pm m$

Группа животных	Вариант постановки НСТ		
	спонтанный	стимулированный	
	ед. оп. пл.	ед. оп. пл.	функциональный резерв
Здоровые животные (контроль)	$0,24 \pm 0,02$	$0,23 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,08$
Носители ВЛКРС	$0,28 \pm 0,02$	$0,18 \pm 0,01^*$	$0,65 \pm 0,06^{**}$
Инфицированные лейкозной и бруцеллезной инфекцией	$0,56 \pm 0,06^{**}$	$0,51 \pm 0,20$	$0,87 \pm 0,25$

Примечание: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

У инфицированного вирусом лейкоза крупного рогатого скота отмечается снижение индуцированной тетразолиевой активности нейтрофилов до $0,18 \pm 0,01$ против

$0,23 \pm 0,02$ ед. оп. пл. ($P < 0,05$) в контрольной группе. В то же время у коров с лейкоз-ассоциированной инфекцией стимулированная активность кислород-зависимых ме-

ханизмов возрастала в 2,2 раза, хотя не достигала достоверной разницы из-за сильного колебания этого показателя у отдельных животных от 0,180 до 1,304 ед. оп. пл.

Функциональный резерв нейтрофилов у здоровых коров составил $1,00 \pm 0,08$, тогда как у животных-вирусоносителей достоверно снижался до $0,65 \pm 0,06$ ($P < 0,01$) и варьировал от 0,49 до 0,80. Следует отметить, что этот коэффициент при лейкоз-ассоциированной инфекции был очень нестабилен: у одного животного резко повышался, у других – опускался до минимума или находился в пределах нормальных значений.

Таким образом, можно отметить изменения, характеризующие формирование недостаточности антиоксидантной системы, обусловленной, прежде всего, ассоциированным инфекционным процессом. Подобные изменения не характерны для носите-

лей ВЛКРС, так как инфекционный процесс определяется лишь специфическими иммунологическими изменениями.

Выводы. На основании анализа полученных результатов можно заключить, что инфицированность ВЛКРС в животноводческих хозяйствах Северо-Казахстанской области в 80 % случаев носит ассоциативный характер. Причем, наиболее часто лейкозная инфекция регистрируется с бруцеллёзом (46 %), хламидиозом (20 %) и паратуберкулёзом (12 %).

Особенностью кислородзависимого метаболизма нейтрофилов при сочетанном течении лейкозной и бруцеллёзной инфекций является существенное увеличение показателей спонтанной и стимулированной тетразолиевой активности, а также функционального резерва нейтрофилов у отдельных животных на фоне значительного снижения этого параметра у носителей ВЛКРС.

Литература

1. Красиков А. П., Елеусизова А. Т., Байсеитов С. Т. Қазақстан Республикасы Солтүстік Қазақстан облысында ІҚМ лейкозының вирусы бойынша эпизоотология лықшолу // «З¹: intellect, idea, innovation – интеллект, идея, инновация». 2018. № 1. С. 46-52.
2. Мониторинг эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в товарных и племенных хозяйствах Российской Федерации за 2014-2015 годы / М. И. Гулюкин [и др.] // Ветеринария и кормление. 2016. № 4. С. 6-7.
3. Preventive and therapeutic strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV / S. M. Rodriguez [et al.] // Viruses. 2011. Vol. 3. Pp. 1210-1248.
4. Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattle / P. C. Bartlett [et al.] // J. Am. Vet. Med. Assoc. 2014. Vol. 244. Pp. 914-922.
5. Genotyping bovine leukemia virus in dairy cattle of Heilongjiang, northeastern China / C. Yu [et al.] // BMC Vet. Res. 2019. Vol. 15 (1). Pp. 179.
6. Смирнов П. Н. Лейкоз крупного рогатого скота: проблемы и их решение на уровне субъекта Федерации // Ветеринария Кубани. 2007. № 4. С. 4-6.
7. Куриленко А. Н., Крупальник В. Т. Инфекционные болезни молодняка сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 2001. 144 с.
8. Эпизоотология и профилактика лейкоза крупного рогатого скота / Ю. П. Смирнов [и др.] // Вестник РАСХН. 2008. № 1. С. 75-76.
9. Иванов А. И. Характеристика функциональной активности нейтрофилов периферической крови при лейкозе крупного рогатого скота: автореферат дис. ... канд. ветеринар. наук. Омск, 2017. 19 с.
10. Иванов А. И., Власенко В. С. Применение теста с нитросиним тетразолием для выявления животных с повышенной чувствительностью к лейкозной инфекции // Достижения науки и техники АПК. 2015. Т. 29. № 4. С. 61-62.
11. Методы иммунологической оценки животных, сенсibilизированных изменёнными формами бруцелл: методическое пособие / Л. В. Дегтяренко [и др.]. Москва, Омск: ФГБНУ ВНИИБТЖ, ФГБНУ ВИЭВ, ФГБНУ «ВГНКИ», 2017. 32 с.

FUNCTIONAL METABOLIC ACTIVITY OF LEUKOCYTES IN CATTLE WITH LEUKOSIS-ASSOCIATED INFECTION

S. T. Baiseitov, Postgraduate Student

V. S. Vlasenko, Dr. Bio. Sci., Professor

Omsk State Agrarian University

1, Institutskaya Ploshad, Omsk, Russia, 644008

E-mail: vvs-76@list.ru

ABSTRACT

The article presents the results of a comparative study of functional activity of animal neutrophils in case of leukemia infection including its association with brucellosis. At the beginning of the study, 50 cows were selected with antibodies to bovine leukemia virus (BLV) detected across several diagnostic tests: immune diffusion reaction, indirect immunofluorescence reaction, and enzyme immunoassay (EIA). The follow-up serological test for antibodies to a number of pathogens of infectious diseases showed that in 80 % of animals, an association with bacterial pathology accompanies BVL. Cases of a combined course of leukemia infection with brucellosis (in 46 % of cows), chlamydia (20 %), paratuberculosis (12 %), campylobacteriosis (8 %) and anaplasmosis (4 %) were revealed. At the final stage of the study, we examined the features of the functional activity of neutrophils in the test with nitro blue tetrazolium (NBT test) in the combined course of leukemia and brucellosis infection due to the most frequent manifestations of these associations. For this purpose, fifteen heads of cattle were divided into 3 groups: 1st – healthy animals (n = 5); 2nd – carriers of BVL (n = 5) and 3rd – simultaneously infected with brucellosis and BVL. It is determined that a significant increase in spontaneous and stimulated tetrazolium activity and a functional reserve of neutrophils accompanies the associated course of leukemia and brucellosis in individual animals. That might be a sign of an antioxidant system deficiency.

Key words: leucosis, associated infections, NBT test, brucellosis, neutrophils.

References

1. Красиков А. П., Елеусизова А. Т., Байсеитов С. Т. Қазақстан Республикасы Солтүстік Қазақстан облысында ІҚМ лейкозының вирусы бойынша эпизоотология лықшолу (Epizootology on leukemia virus in the North Kazakhstan region of the Republic of Kazakhstan), 3^і: intellect, idea, innovation – интеллект, идея, инновация, 2018, No. 1, pp. 46-52.
2. Monitoring epizooticheskoi situatsii po leikozy krupnogo rogatogo skota v tovarnykh i plemennykh khozyaistvakh Rossiiskoi Federatsii za 2014-2015 gody (Monitoring the epizootic situation of leukemia in cattle in the commodity and breeding farms of the Russian Federation in 2014-2015), M. I. Gulyukin [i dr.], Veterinariya i kormlenie, 2016, No. 4, pp. 6-7.
3. Preventive and therapeutic strategies for Bovine Leukemia Virus: Lessons for HTLV, S. M. Rodriguez [et al.], Viruses, 2011, Vol. 3, pp. 1210-1248.
4. Options for the control of bovine leukemia virus in dairy cattle, P. C. Bartlett [et al.], J. Am. Vet. Med. Assoc., 2014, Vol. 244, pp. 914-922.
5. Genotyping bovine leukemia virus in dairy cattle of Heilongjiang, northeastern China, C. Yu [et al.], BMC Vet. Res., 2019, Vol. 15 (1), pp. 179.
6. Smirnov P. N. Leikoz krupnogo rogatogo skota: problemy i ikh reshenie na urovne sub"ekta Federatsii (Cattle leukemia: problems and their solution at the level of the Subject of the Federation), Veterinariya Kubani, 2007, No. 4, pp. 4-6.
7. Kurilenko A. N., Krupal'nik V. T. Infektsionnye bolezni molodnyaka sel'skokhozyaistvennykh zhyvotnykh (Infectious diseases of young farm animals), M., Kolos, 2001, 144 p.

8. Epizootologiya i profilaktika leikoza krupnogo rogatogo skota (Epizootology and prevention of cattle leukemia), Yu. P. Smirnov [i dr.], Vestnik RASKhN, 2008, No. 1, pp. 75-76.
9. Ivanov A. I. Kharakteristika funktsional'noi aktivnosti neitrofi-lov perifericheskoi krovi pri leikoze krupnogo rogatogo skota (Characteristics of the functional activity of peripheral blood neutrophils in cattle leukemia), avtoreferat dis. ... kand. veterinar. nauk, Omsk, FGBOU Omskii GAU, 2017, 19 p.
10. Ivanov A. I., Vlasenko V. S. Primenenie testa s nitrosinim tetrazolium dlya vyyavleniya zhivotnykh s povyshennoi chuvstvitel'nost'yu k leikoznoi infektsii (The use of nitro blue tetrazolium test to identify animals with an increased sensitivity to leukemia infection), Dostizheniya nauki i tekhniki APK, 2015, T. 29, No. 4, pp. 61-62.
11. Metody immunologicheskoi otsenki zhivotnykh, sensibilizirovannykh izmenennymi formami brutsell (Methods for immunological evaluation of animals sensitized with altered forms of brucella), metodicheskoe posobie, L. V. Degtyarenko [i dr.], Moskva, Omsk, FGBNU VNIIBTZh, FGBNU VIEV, FGBNU «VGNKI», 2017, 32 p.

УДК 619:637.074

ВЛИЯНИЕ БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ НА АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МЯСА КРОЛИКОВ

Д. В. Гончар, аспирант,
ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина,
ул. Академика Скрябина, 23, Москва, Россия, 109472
E-mail: san111194@mail.ru

Аннотация. В статье представлены материалы по применению белковых гидролизатов растительного происхождения Абиопептид и Абиотоник в кролиководстве, а также результаты изучения органолептических показателей и аминокислотного состава мяса кроликов. Объектом исследования служили кролики Калифорнийской породы, достигшие 45-суточного возраста. Эксперимент проводился на базе промышленной кроликофермы компании ООО «Лидан», расположенной в д. Бунькова, Истринского района, Московской области. В эксперименте были задействованы 3 группы кроликов по 10 животных в каждой. Кроликам первой группы задавали кормовую добавку Абиопептид – 1 мг/кг живой массы через день, второй группе Абиотоник – 1 мг/кг живой массы через день, третья группа кроликов являлась контрольной. Эксперимент продлился 45 суток. Все кролики, задействованные в эксперименте, содержались в одинаковых условиях. Наблюдение за животными проводили по общепринятым методикам на протяжении всего эксперимента. Убой кроликов опытных и контрольной групп проводился в возрасте 90 суток. Клинический осмотр перед убоем показал, что все кролики были клинически здоровы на момент эксперимента. Путем проведения лабораторных исследований установлено, что органолептические показатели мяса кроликов опытных и контрольной групп соответствовали требованиям доброкачественного мяса. В образцах мяса, отобранных от опытных и контрольной групп кроликов, было выявлено наличие полного набора аминокислот.

Ключевые слова: мясо, кролиководство, кормовые добавки, белковые гидролизаты, аминокислоты, Абиопептид, Абиотоник.