

Р. М. Васильев

Влияние антибиотикотерапии генитального микоплазмоза у стельных коров на цитологические и иммунологические характеристики вагинального секрета

Аннотация.

Цель: изучение терапевтической эффективности антибиотика макролидной группы тулатромицина и его влияния на иммунологические и цитологические характеристики вагинального секрета.

Материалы и методы. Для эксперимента было сформировано 2 группы по 8 животных в каждой. Первая группа – коровы без клинических признаков вагинита с положительным ПЦР-тестом на *Mycoplasma spp.*; вторая группа – клинически здоровые коровы с отрицательным ПЦР-тестом на *Mycoplasma spp.* Первой группе коров для лечения генитального микоплазмоза применяли антибиотик траксовет 100 (тулатромицин) в дозе 2,5 мг на 1 кг массы тела животного, подкожно, однократно за 40 дней до предполагаемых родов. У обеих групп коров собирали вагинальный секрет, в котором определяли содержание IgG, IgM, IgA, sIg A, активность лизоцима и цитологическое исследование вагинального мазка.

Результаты. Применение тулатромицина коровам с генитальным микоплазмозом приводит к снижению содержания Ig M и sIg A в вагинальном секрете, которые достигают значения данных показателей у здоровых животных. Менее выраженное положительное влияние наблюдается в отношении активности лизоцима вагинального секрета, которая хотя и достоверно повышается, но остается ниже, чем у здоровых коров. При цитологическом исследовании вагинальных мазков на фоне антибиотикотерапии отмечалось существенное снижение количества эпителия и лейкоцитов.

Заключение. Использование в качестве этиотропной терапии коров с генитальным микоплазмозом антибиотика траксовет 100 приводит к элиминации возбудителя со слизистой оболочки влагалища у 75% больных животных и обеспечивает частичное восстановление цитологических и иммунологических характеристик вагинального секрета.

Ключевые слова: коровы, микоплазмоз, вагинальный секрет, лизоцим, иммуноглобулины, цитограмма вагинального мазка.

Авторы:

Васильев Роман Михайлович — кандидат ветеринарных наук, доцент, e-mail: rmvpcrvet@yandex.ru; Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д.5.

Введение. На современном этапе развития промышленного животноводства большое внимание уделяется сохранению репродуктивного здоровья самок и повышению показателей воспроизводства. Несмотря на серьезные достижения в этом направлении до сих пор остается актуальной задача своевременной диагностики и терапии заболеваний различного генеза, оказывающих негативное воздействие на воспроизводительную функцию животных [1]. Особое внимание обращают на себя болезни, характеризующиеся длительным бессимптомным течением, что позволяет им вызывать в органах репродуктивного тракта необратимые морфофункциональные изменения, приводящие к преждевременному исключению та-

ких животных из хозяйственного использования. В результате животноводческие предприятия несут существенные убытки, складывающиеся из недополучения приплода, рождения ослабленного молодняка и затрат на лечение. Одним из представителей данной группы заболеваний является генитальный микоплазмоз крупного рогатого скота. Характерными особенностями данного заболевания является длительный латентный период, длящийся от нескольких недель до нескольких месяцев, а также наличие неспецифической клинической картины, что позволяет ему ускользать от внимания ветеринарных специалистов и распространяться в стаде [2, 3]. Кроме того, у коров инфицированных генитальной микоплазмой су-

щественно выше процент патологических родов и послеродовых эндометритов [4].

Мониторинговые исследования, проведенные на животноводческих предприятиях как в нашей стране, так и за рубежом показывают значительный уровень инфицирования коров генитальной микоплазмой [5, 6]. Даже при отсутствии клинических признаков воспаления органов репродуктивного тракта, микоплазмы существенно влияют на воспроизводительную функцию животных. Данные зарубежных специалистов демонстрируют, что в группе коров с обнаруженной во влагалище микоплазмой после осеменения не оплодотворилось 32,3 % животных, а в группе не инфицированных — только 3,4 % [7].

Возможность внедрения и размножения генитальной микоплазмы в организме животного целиком зависит от функционального состояния слизистой оболочки влагалища, обладающей широким спектром защитных свойств. Среди них значительная роль отводится вагинальной аутофлоре, десквамации эпителия, фагоцитозу, pH вагинального секрета и содержанию в нем иммуноглобулинов, лизоцима и других неспецифических факторов защиты [8]. Наиболее важное значение среди указанных факторов принадлежит иммуноглобулинам, а особенно секреторному иммуноглобулину А (sIg A), которые препятствуют адгезии инфекционных агентов к эпителиальным клеткам за счет образования иммунных комплексов, а также активируют систему комплемента, нейтрализуя биологическую активность возбудителей.

Основными препаратами для лечения животных с генитальным микоплазмозом являются антибиотики тетрациклиновой, макролидной, фторхинолоновой групп [2, 9]. Однако чувствительность микоплазм к антибактериальным препаратам со временем может значительно уменьшаться [2, 10]. В настоящее время наиболее эффективными для лечения коров с генитальным микоплазмозом являются препараты группы макролидов [10].

Цель исследования — изучение терапевтической эффективности антибиотика макролидной группы тулатромицина и его влияния на иммунологические и цитологические характеристики вагинального секрета.

Материалы и методы. Исследования проводились на базе ЗАО «Осьминское» Сланцевского района Ленинградской области на стельных коровах возрастом 3-4 года. Было сформировано 2 группы по 8 животных в каждой. Первая группа (опытная) — коровы без клинических признаков

вагинита с положительным ПЦР-тестом на *Mycoplasma spp.*, в дальнейшем серологически идентифицированной в РНГА как *M. bovis genitalium*. Вторая группа (контроль) — клинически здоровые коровы с отрицательным ПЦР-тестом на *Mycoplasma spp.* Для диагностики микоплазмоза использовалась тест система «МИК-КОМ» производства ООО «ИнтерЛабСервис».

Первой группе коров для лечения генитального микоплазмоза применяли антибиотик траксовет 100 (тулатромицин) в дозе 2,5 мг на 1 кг массы тела животного, подкожно, однократно за 40 дней до предполагаемых родов.

Контроль терапевтической эффективности траксовета 100 осуществлялся путем повторного ПЦР-теста на *Mycoplasma spp.* через 14 дней после введения препарата.

У коров обеих групп с помощью специальной ложки в области шейки матки с верхней и боковых стенок влагалища собирали вагинальный секрет, а с использованием цитощетки брали материал для изготовления мазков, предназначенных на цитологическое исследование. У опытной группы пробы отбирали дважды — до начала терапии и через 14 дней после введения антибиотика. У контрольной группы однократно — за 25-27 дней до предполагаемых родов.

В вагинальном секрете определяли содержание — IgG, IgM, IgA, sIg A и их общее количество методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини и активность лизоцима нефелометрическим методом по В. Г. Дорофейчуку. Цитологическое исследование включало определение среднего содержания эпителия и лейкоцитов в поле зрения мазка, а также процентного соотношения лейкоцитов разных видов. Микроскопия проводилась при увеличении в 400 раз (10x40). Полученный цифровой материал статистически обработан с использованием компьютерной программы SPSS 22.0.

Результаты и обсуждение. Результаты эксперимента продемонстрировали высокую терапевтическую эффективность тулатромицина при генитальном микоплазмозе коров, так повторное ПЦР-тестирование выявило наличие микоплазм только у двух животных из восьми, что составляет 75 %.

Экспериментальные данные по влиянию тулатромицина на иммунологические характеристики вагинального секрета приведены в таблице 1.

Из приведенных в таблице данных видно, что применение для лечения коров с генитальным микоплазмозом тулатромицина не оказывало су-

щественного влияния на содержание IgG. Первоначально повышенный уровень IgM у инфицированных животных в результате антибиотикотерапии претерпевал достоверное снижение на 26 % и достигал его значения у здоровых коров, что указывает на снижение антигенной стимуляции слизистой оболочки влагалища микоплазмами. Исходно низкое количество IgA у коров с микоплазмозом через 14 дней после применения тулатромицина хотя и повышалось на 22%, но изменение не носило достоверного характера.

Что касается секреторного иммуноглобулина А, то высокий его уровень у коров с микоплазмозом в результате проведения терапии достоверно снижался на 34,4 % и приближался к его значению у контрольной группы. Учитывая, что секреторный иммуноглобулин А препятствует адгезии патогенов на слизистых оболочках и стимулирует фагоцитарную активность макрофагов и нейтрофилов, то снижение его концентрации может говорить об элиминации микоплазм со

слизистой оболочки влагалища. Торможение конвертации на этом фоне IgA в sIg A вероятно и обуславливает повышение концентрации Ig A в вагинальном секрете [8].

Результаты цитологического исследования вагинальных мазков у больных генитальным микоплазмозом коров приведены в таблице 2.

Приведенные в таблице данные показывают, что в вагинальных мазках у коров с генитальным микоплазмозом после терапии тулатромицином достоверно снизилась десквамация вагинального эпителия на 38,7 % и количество лейкоцитов — на 41,8 %, но эти показатели были все же выше, чем у клинически здоровых коров. Подобные изменения обусловлены элиминацией микоплазм в результате антибиотикотерапии и значительном снижении токсического воздействия на эпителий их токсичных метаболитов.

Что касается процентного соотношения лейкоцитов в вагинальном мазке, то в результате применения тулатромицина больным гениталь-

Таблица 1. Динамика иммунологических характеристик вагинального секрета больных генитальным микоплазмозом коров при лечении тулатромицином

Показатели	Генитальный микоплазмоз		Здоровые коровы
	До лечения	На 14-й день	
Ig G, г/л	0,183±0,008	0,2±0,005	0,19±0,008
Ig M, г/л	0,054±0,003	0,04±0,003**	0,039±0,003
Ig A, г/л	0,018±0,001	0,022±0,002	0,024±0,003
sIg A, г/л	0,096±0,007	0,063±0,002**	0,067±0,005
Общие Ig, г/л	0,35±0,013	0,32±0,01	0,32±0,011
Активность лизоцима, %	5,86±0,33	8,7±0,18***	11,71±0,41

Примечания: указан уровень достоверности между животными опытной группы в динамике:

** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

Таблица 2. Цитологическая характеристика вагинальных мазков больных генитальным микоплазмозом коров при использовании для лечения тулатромицина

Показатели	Генитальный микоплазмоз		Здоровые коровы
	До лечения	На 14-й день	
Среднее число эпителия в поле зрения, клеток	15,5±1,42	9,5±0,89**	5,0±0,71
Среднее число лейкоцитов в поле зрения, клеток	22,75±1,89	13,25±0,89**	7,12±0,78
Базофилы, %	0,12±0,1	0	0,12±0,1
Эозинофилы, %	0,5±0,3	0,5±0,3	0,25±0,18
Палочкоядерные нейтрофилы, %	0,62±0,3	0,5±0,3	0,25±0,18
Сегментоядерные нейтрофилы, %	37,12±2,07	41,0±1,66	48,0±2,37
Лимфоциты, %	53,9±1,95	50,0±1,66*	48,8±0,77
Моноциты, %	5,0±0,59	5,38±0,77	2,0±0,36
Макрофаги, %	2,75±0,83	2,88±0,53	0,38±0,22

Примечания: указан уровень достоверности между животными опытной группы в динамике:

* — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$.

ным микоплазмозом коровам достоверных изменений в содержании базофилов, эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов не наблюдалось, и оно не отличалось от показателей здоровых животных. Относительное содержание у инфицированных животных сегментоядерных нейтрофилов на фоне антибиотикотерапии имело тенденцию к увеличению, но оставалось существенно ниже, чем у здоровых коров.

Применение для лечения тулатромицина приводило к достоверному снижению процента лимфоцитов у животных с микоплазмозом, и он практически достигал уровня здоровых коров, что может говорить о снижении иммунологической реактивности слизистой оболочки влагалища в результате инактивации возбудителя [11, 12]. Исходно высокий процент моноцитов и макрофагов у коров с генитальным микоплазмозом в следствие антибиотикотерапии не претерпевал существенных изменений. Это можно связать с тем, что мононуклеарные фагоциты к текущему моменту пока еще задействованы в процессе очистки слизистой оболочки от эпителиальных клеток, содержащих антигенные структуры микоплазм.

Заключение. На основании полученных результатов установлено, что использование в ка-

честве этиотропной терапии генитального микоплазмоза крупного рогатого скота антибиотика траксовет 100 (тулатромицин) приводит к элиминации возбудителя со слизистой оболочки влагалища у 75% животных.

Терапия тулатромицином коров с генитальным микоплазмозом приводит к снижению содержания Ig M и sIg A в вагинальном секрете, которые достигают значения данных показателей у здоровых животных. Менее выраженное положительное влияние наблюдается в отношении активности лизоцима вагинального секрета, которая хотя и достоверно повышается, но остается ниже, чем у здоровых коров.

Менее выраженный позитивный эффект применения тулатромицина наблюдался при цитологическом исследовании вагинальных мазков. Антибиотикотерапия приводила к достоверному снижению числа эпителиальных клеток и лейкоцитов в вагинальном мазке, но оно оставалось выше, чем у здоровых животных.

Относительное содержание лейкоцитов разных видов в вагинальных мазках на фоне применения тулатромицина не претерпело видимых изменений, кроме достоверного снижения процента лимфоцитов.

Литература

1. Лощинин С. О. Роль отрицательного энергетического баланса у коров после отела в патогенезе воспаления матки / С. О. Лощинин, В. С. Авдеенко, Г. М. Фирсов, К. В. Племяшов, Г. С. Никитин, В. И. Михалев // Международный вестник ветеринарии. — 2022. — № 1. — С. 185-197. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.1.185.
2. Красиков А. П. Микоплазмозы человека и животных и их эпидемиологическое и эпизоотологическое значение / А. П. Красиков, Н. В. Рудаков // Омск, ООО ИЦ «Омский научный вестник», 2015. 717 с.
3. Nicholas R. A. J. Mycoplasma bovis: disease, diagnosis, and control / R. A. J. Nicholas, R. D. Ayling // Research in Veterinary Science. — 2003. — Vol. 74. — Issue 2. — P. 105-112. DOI: 10.1016/s0034-5288(02)00155-8.
4. Ghanem M. E. 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.
5. Lysnyansky I. Mycoplasma canadense from outbreaks of granulopapular vulvovaginitis in dairy cattle in Israel / I. Lysnyansky, J. Brenner, N. Alpert [et. al.] // Vet Rec. — 2009. — Vol. 165. — №11. — P. 319-322. DOI: 10.1136/vr.165.11.319.
6. 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. — Vol. 36. — № S1. — P. R3467. DOI: 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3467.
7. Hazelton M. S. Mycoplasma species in vaginas of dairy cows before and after exposure to bulls and their association with conception / M.S. Hazelton, J.M. Morton, K.L. Bosward [et. al.] // Journal of Dairy Science. — 2020. — Vol. 103. — №12. — P. 11796-11805. DOI: 10.3168/jds.2020-18758.

8. Vasiliev R. Concentration of immunoglobulins in vaginal secretion in healthy cows and with mycoplasmosis / R. Vasiliev // FASEB Journal. — 2021. — Vol. 35. — № S1. — P. 01622. DOI: 10.1096/fasebj.2021.35.S1.01622.
9. 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.
10. Лещинский И. И. Макролиды - препараты выбора для борьбы с микоплазмозами животных / И.И. Лещинский // РВЖ СХЖ. — 2009. — №1. — P. 44-45.
11. 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. — Vol. 99. — № S3. — P. 273. DOI:10.1093/jas/skab235.500.
12. Zbinden C. The immune response of bovine mammary epithelial cells to live or heat-inactivated *Mycoplasma bovis* / C. Zbinden, P. Pilo, J. Frey [et. al.] // Veterinary Microbiology. — Vol. 179. — 2015. — P. 336-340 DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.07.007.

Vasiliev R.

Effect of antibiotic therapy of genital mycoplasmosis in pregnant cows on cytological and immunological characteristics of vaginal secretions

Abstract.

Purpose: the aim is to study the therapeutic efficacy of the macrolide group antibiotic tulatromycin and its effect on the immunological and cytological characteristics of vaginal secretions.

Materials and methods. For the experiment, 2 groups of 8 animals each were formed. The first group - cows without clinical signs of vaginitis with a positive PCR test for *Mycoplasma* spp.; the second group - clinically healthy cows with a negative PCR test for *Mycoplasma* spp. The first group of cows, the group for the treatment of genital mycoplasmosis, used the antibiotic traksovet 100 (tulatromycin) at a dose of 2.5 mg per 1 kg of animal body weight, subcutaneously, once 40 days before the expected delivery. Vaginal secretions were collected from both groups of cows, in which the content of Ig G, Ig M, Ig A, slg A, lysozyme activity and cytological examination of the vaginal smear were determined.

Results. The use of tulatromycin in cows with genital mycoplasmosis leads to a decrease in the content of Ig M and slg A in vaginal secretions, which reach the values of these indicators in healthy animals. A less pronounced positive effect is observed with respect to the activity of the vaginal secretion lysozyme, which, although significantly increased, remains lower than in healthy cows. Cytological examination of vaginal smears against the background of antibiotic therapy showed a significant decrease in the number of epithelium and leukocytes.

Conclusion. The use of traksovet 100 antibiotic as etiotropic therapy for cows with genital mycoplasmosis leads to the elimination of the pathogen from the vaginal mucosa in 75 % of sick animals and provides partial restoration of cytological and immunological characteristics of vaginal secretions.

Key words: cows, mycoplasmosis, vaginal secretion, lysozyme, immunoglobulins, cytogram of vaginal smear.

Authors:

Vasiliev R. - PhD (Vet. Sci.); e-mail: rmvpcrvet@yandex.ru; St. Petersburg State University of Veterinary Medicine, 196084, St. Petersburg, st. Chernigovskaya, 5.

References

1. Loshchinin S.O. The role of the negative energy balance of cows after a hotel in the pathogenesis of inflammation of the uterus / S.O. Loshchinin, V. S. Avdeenko, G. M. Firsov, K. V. Streyashov, G. S. Nikitin, V. I. Mikhalev // International Veterinary Medical Communications. – 2022. – № 1. – P. 185-197. DOI: 10.52419/ISSN2072-2419.2022.1.185.
2. Krasikov A.P. Mycoplasmosis of man and animals and their epidemiological and epizootological significance / A.P. Krasikov, N.V. Rudakov // Omsk, IC Omsk Scientific Bulletin, 2015. 717 p.
3. Nicholas R. A. J. Mycoplasma bovis: disease, diagnosis, and control / R. A. J. Nicholas, R. D. Ayling // Research in Veterinary Science. – 2003. – Vol. 74. – Issue 2. – P. 105-112. DOI: 10.1016/s0034-5288(02)00155-8.
4. Ghanem M. E. 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.
5. Lysnyansky I. Mycoplasma canadense from outbreaks of granulopapular vulvovaginitis in dairy cattle in Israel / I. Lysnyansky, J. Brenner, N. Alpert [et. al.] // Vet Rec. – 2009. – Vol. 165. – №11. – P. 319-322. DOI: 10.1136/vr.165.11.319.
6. 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. – Vol. 36. – № S1. – P. R3467. DOI: 10.1096/fasebj.2022.36.S1.R3467.
7. Hazelton M. S. Mycoplasma species in vaginas of dairy cows before and after exposure to bulls and their association with conception / M.S. Hazelton, J.M. Morton, K.L. Bosward [et. al.] // Journal of Dairy Science. – 2020. – Vol. 103. – №12. – P. 11796-11805. DOI: 10.3168/jds.2020-18758.
8. Vasiliev R. Concentration of immunoglobulins in vaginal secretion in healthy cows and with mycoplasmosis / R. Vasiliev // FASEB Journal. – 2021. – Vol. 35. – № S1. – P. 01622. DOI: 10.1096/fasebj.2021.35.S1.01622.
9. 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
10. Leshchinsky I. I. Makrolidi - drugs for the fight against animal mycoplasmoses / I.I. Leshchinsky // RVZH SCHZH. – 2009. – № 1. – P. 44-45.
11. 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. – Vol. 99. – № S3. – P. 273. DOI:10.1093/jas/skab235.500.
12. Zbinden C. The immune response of bovine mammary epithelial cells to live or heat-inactivated Mycoplasma bovis / C. Zbinden, P. Pilo, J. Frey [et. al.] // Veterinary Microbiology. – Vol. 179. – 2015. – P. 336-340 DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.07.007.