

doi.org/10.31043/2410-2733-2023-4-53-58
УДК 615.37:618.1:616:579.887.111:636.2.082.455

Р. М. Васильев

Изменение иммунологических характеристик вагинального секрета коров с генитальным микоплазмозом при включении в схему лечения иммуномодулятора

Аннотация.

Цель: изучение влияния включения в схему лечения генитального микоплазмоза крупного рогатого скота иммуномодулятора тималина на иммунологические характеристики вагинального секрета.

Материалы и методы. Для эксперимента 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. У опытных групп коров через 2 недели после начала лечения проводили контроль эффективности терапии путем проведения ПЦР-теста на *Mycoplasma spp.* До начала терапии у животных всех групп 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 и их общее количество методом радиальной иммунодиффузии в геле по Манчини, активность лизоцима и определяли его реакцию (pH).

Результаты. В группе животных, для лечения которых использовали траксовет, через 2 недели от начала терапии *Mycoplasma spp.* была выявлена у 2 коров из 8 (терапевтическая эффективность составила 75 %); в группе коров, где применяли траксовет в сочетании с тималином, положительных тестов на *Mycoplasma spp.* не было (терапевтическая эффективность – 100 %). Применение антибиотика для лечения коров с микоплазмозом приводит к восстановлению до уровня здоровых животных только Ig M и sIg A, тогда как при включении в схему терапии тималина все изучаемые показатели достигали их значений у здоровых коров.

Заключение. Применение для лечения коров с генитальным микоплазмозом комбинации тулатромицина и тималина обеспечивает более высокий процент выздоровления, а также способствует восстановление иммуно-биологических свойств вагинального секрета.

Ключевые слова: коровы, микоплазмоз, вагинальный секрет, тулатромицин, тималин, лизоцим, иммуноглобулины, pH.

Авторы:

Васильев Р. М. — кандидат ветеринарных наук; e-mail: rmpcrvet@yandex.ru; ФГБУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»; 196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5.

Введение. Эффективное ведение промышленного животноводства в современных условиях предполагает не только достижение 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 [1]. 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 [2]. 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 [3].

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 [4, 5]. 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 [6, 7].

Ключевая роль в противостоянии внедрению различных возбудителей в слизистую оболочку влагалища принадлежит комплексу защитных механизмов, включающих: вагинальную аутофлору, реакцию вагинального секрета, содержанию в нем иммуноглобулинов и лизоцима. С учетом биологии микоплазм наиболее важным фактором, препятствующим их адгезии к эпителиальным клеткам, являются иммуноглобулины вагинального секрета, среди которых ключевая роль принадлежит иммуноглобулину A (sIg A) [8]. 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 [9]. Наибольшую эффективность, по мнению ряда авторов, при генитальном микоплазмозе крупного рогатого скота демонстрируют антибиотики группы макролидов и фторхинолонов [10]. 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 иммуностимулирующих препаратов с широким спектром действия, а в частности пептидных регуляторов [11].

Цель исследований — изучить влияние включения в схему лечения генитального микоплазмоза крупного рогатого скота пептидного биорегулятора тималина на иммунологические характеристики вагинального секрета.

Материалы и методы. 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 ч. 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 «Интер-ЛабСервис». 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 групп 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 применением тест-системы «Кольпо-тест рН». Полученный цифровой материал был статистически обработан с использованием компьютерной программы SPSS 22.0.

Результаты и обсуждение. Оценка терапевтической эффективности, проведенная путем повторного тестирования коров экспериментальных групп, методом ПЦР показала, что в группе коров, где для лечения генитального микоплазмоза использовали тулатромицин, *Mycoplasma spp.* была обнаружена только у 2 животных, а в группе, где применяли тулатромицин в сочетании с тималином, положительных тестов не было.

Изучение характеристик вагинального секрета позволило выявить следующие изменения. Содержание Ig G до начала лечения составляло $0,183 \pm 0,008$ г/л и было всего на 3,8 % ниже, чем у здоровых коров. На фоне проведенного лечения в обеих подопытных группах достоверного изменения данного показателя не наблюдалось.

Исходно высокий уровень Ig M у коров с генитальным микоплазмозом $0,054 \pm 0,003$ г/л в результате проведенной антибиотикотерапии снижался на 25,9 %, а при ее сочетании с иммуномодулятором — на 27,8 %, достигая значения данного показателя у здоровых животных. В обоих случаях изменения были статистически достоверными ($P < 0,01$). Синхронное снижение данного показателя у коров подопытных групп можно объяснить элиминацией микоплазм со слизистой оболочки влагалища под действием тулатромицина.

Что касается Ig A, то его концентрация в вагинальном секрете возрастала с $0,018 \pm 0,001$ г/л до $0,022 \pm 0,002$ г/л в группе коров, которым для лечения вводили тулатромицин и до $0,024 \pm 0,001$ г/л в группе, где применяли тулатромицин в сочетании с тималином, однако достоверными изменения были только во второй группе.

Содержание секреторного Ig A у больных генитальным микоплазмозом коров до начала терапии составляло $0,096 \pm 0,007$ г/л, а через 2 недели от ее начала оно достоверно ($P < 0,01$) снижалось у животных, которым применяли траксовет, на 34,4 %, а у получавших траксовет в сочетании с тималином на 30,3 % и сравнивалось со значением данного показателя у здоровых животных. Увеличение концентрации Ig A у коров, которым применяли комбинацию тулатромицина и тималина, связана с более быстрым торможением конвертации Ig A в sIg A у этой

группы животных [12]. Снижение концентрации в вагинальном секрете sIg A у животных экспериментальных групп происходило пропорционально росту в нем содержания Ig A.

Изучение активности лизоцима в вагинальном секрете показало, что у коров, которым применяли тулатромицин, данный показатель достоверно увеличивался с $5,86 \pm 0,33$ % до $8,7 \pm 0,18$ % ($P < 0,001$), 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 до начала лечения концентрация водородных ионов в вагинальном секрете составляла $6,56 \pm 0,33$, после антибиотикотерапии она снижалась до $5,29 \pm 0,15$ ($P < 0,01$), а после сочетанной с иммуномодулятором терапии — до $4,62 \pm 0,13$ ($P < 0,001$) и не отличалась от таковой у здоровых животных. 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 [8].

Закключение. 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 pH 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 M и sIg A.

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 M, A, sIg A, активности лизоцима и концентрации водородных ионов.

Литература

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. Микоплазмозы 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 [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. — Vol. 99. — № S3. — P. 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 bovis genitalium in cattle and buffalo in Egypt using dot ELISA and PCR with anti-microbial trials / S. A. Marouf, Kh. F. Mohamed, J. El-Jakee // European J. Biol. Sci. — 2011. — Vol. 3. — №1. — P. 1-8.
9. 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.
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. — Vol. 36. — № S1. — P. 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. — № 4. — P. 987-990. DOI 10.15789/1563-0625-IBP-2278.

Vasiliev R.

Changes in the immunological characteristics of vaginal secretions of cows with genital mycoplasmosis when an immunomodulator is included in the treatment regimen

Abstract.

Purpose: the aim is to study the effect of the inclusion of the immunomodulator thymalin in the treatment regimen of genital mycoplasmosis of cattle on the immunological characteristics of vaginal secretions.

Materials and methods. For the experiment, three groups of pregnant cows were formed, 8 heads each. The first group – pregnant cows with genital mycoplasmosis for the treatment of which the antibiotic traksovet 100 (tulatromycin) was used at a dose of 2.5 mg per 1 kg of animal body weight, subcutaneously, once 40 days before the expected delivery. The second group – pregnant cows with genital mycoplasmosis for the treatment of which the antibiotic traksovet 100 was used at a dose of 2.5 mg per 1 kg of animal body weight, subcutaneously, once 40 days before the expected delivery 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 experimental groups of cows, 2 weeks after the start of treatment, the effectiveness of therapy was monitored by conducting a PCR test for *Mycoplasma* spp. Before the start of therapy, vaginal secretions were collected from the walls of the vagina in animals of all groups. 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, slg A and their total amount were determined by radial immunodiffusion in Mancini gel, lysozyme activity and its reaction (pH) was determined.

Results. In the group of animals for the treatment of which the traksovet was used 2 weeks after the start of therapy, *Mycoplasma* spp. it was detected in 2 cows out of 8 (therapeutic efficacy was 75 %); in a group of cows where traksovet was used in combination with thymalin positive tests for *Mycoplasma* spp. there was no (therapeutic efficacy – 100 %). The use of an antibiotic for the treatment of cows with mycoplasmosis leads to the restoration to the level of healthy animals only Ig M and slg A, whereas, when included in the thymalin therapy regimen, all the studied indicators reached their values in healthy cows.

Conclusion. 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 restoration of the immuno-biological properties of vaginal secretions.

Key words: cows, mycoplasmosis, vaginal secretions, tulatromycin, thymalin, lysozyme, immunoglobulins, pH.

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. Vasiliev R. M. The influence of therapy with Tulatromycin on the immune status of cows with mycoplasmosis and the calves born by them / R. M. Vasiliev // International Veterinary Medical Assembly. – 2023. – № 1. – P. 71-78. DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.1.71.
2. Changes in the dynamics of hormones during the sexual cycle of cattle of Kalmyk breed / E. A. Almtaev, G. S. Nikitin, S. P. Perevoryadkina [et al.] // Modern scientific trends in veterinary medicine: a collection of articles of international scientific and practical Conferences, Penza, December 01-02, 2022. - Penza: Penza State Agrarian University, 2023. – P. 6-9.
3. Krasikov A.P. Micoplasmosis of man and animals, their epidemiological and epizootological significance / A. P. Krasikov, N. V. Rudakov. - Omsk: LLC IC "Omsk Scientific Bulletin", 2015. – 717 p.
4. The spread of mycoplasmoses of cattle on livestock farms in the Russian Federation from 2015 to 2018 / M. A. Alkhussen, A. A. Nesterov [et al.] // Veterinary medicine today today. – 2020. – №2 (33). – P. 102-108. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108.
5. Khavinson V. Kh. Meta-analysis of the immunomodulating activity of the medicinal peptide preparation Timalin / V. Kh. Khavinson, A. A. Korneenkov, I. G. Popovich // Modern problems of health and medical statistics. – 2020. – №4. – P. 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. – Vol. 99. – № S3. – P. 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 anti-microbial trials / S. A. Marouf, Kh. F. Mohamed, J. El-Jakee // European J. Biol. Sci. – 2011. – Vol. 3. – №1. – P. 1-8.
9. 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.
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. – Vol. 36. – № S1. – P. 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. – № 4. – P. 987-990. DOI 10.15789/1563-0625-IBP-2278.