

УДК: 636.5.034:615.33:591.111.1

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2023.3.51

ДИНАМИКА ЛЕЙКОГРАММЫ КРОВИ ЦЫПЛЯТ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТАФИЛОКОККОЗА

Моисеева А.А.¹ * – научный сотрудник (ORCID 0000-0003-2730-3012),
Скворцов В.Н.¹ – руководитель (ORCID0000-0002-9629-0000), Присный А.А.^{1,2} – д-р
биол. н., вед. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-5229-8337), Логвинова С.С.¹ – мл. науч.
сотр. (ORCID 0000-0001-7586-6667), Горбанёва А.С.¹ – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-
0003-1128-0020).

¹ Белгородский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук»

² ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

*annamoiseeva1202@yandex.ru

Ключевые слова: цыплята, кровь, лейкоцитарная формула, экспериментальное заражение, стафилококкоз.

Keywords: chicks, blood, leukogram, experimental infection, staphylococcosis.

Поступила: 10.07.2023

Принята к публикации: 11.09.2023

Опубликована онлайн: 29.09.2023



РЕФЕРАТ

Исследованы изменения в лейкоцитарной формуле цыплят кросса Хайсекс Браун, вызванные воздействием экспериментального стафилококкоза. Осуществлено формирование трех экспериментальных групп, из которых I – контрольная, II-III – опытные. Заражение проведено внутрибрюшинно культурами *Staphylococcus aureus* (группа II) и *Staphylococcus cohnii* (группа III) в концентрации 3 McF. Кровь отбирали методом внутрисердечной пункции на 1, 3, 5, 7, 9, 11 и 13 сутки после заражения. Изучена лейкоцитарная формула в окрашенных мазках крови. В результате проведенных исследований в показателях лейкоцитарной формулы крови обеих опытных групп установлены длительные изменения, наиболее выраженные на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки. Зафиксирован рост количества лейкоцитов в крови цыплят групп II и III, а также продолжительная псевдоэозинофилия и моноцитоз. Снижение абсолютного содержания лимфоцитов в обеих опытных группах к завершению опыта было нивелировано. Незначительные изменения в показателях относительной численности эозинофилов, в основном, зафиксированы в крови цыплят III группы. Следует отметить, что к последним суткам исследований существенных изменений в показателях преимущественно не обнаружено. Выявленные сдвиги в лейкоцитарной формуле крови цыплят группы II выражены в большей степени, относительно данных другой опытной группы. Основываясь на полученных данных, можно предположить, что токсическое воздействие *St. aureus* на организм птиц более выражено по сравнению с влиянием *St. cohnii*.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Стафилококкоз – инфекционное заболевание, вызываемое бактериями рода *Staphylococcus*, регистрируемое у всех видов птиц. Протекает остро или хронически, характеризуется формированием септицемии (у цыплят раннего возраста), поражением суставов и кожи, а также респираторного тракта [1, 2, 3]. Кроме того, стафилококк способен персистировать в организме как в виде бессимптомного носительства, так и проявляться как секундарная инфекция, осложняющая течение разных патологических реакций, либо же способствовать появлению отдельной болезни. Стафилококкоз является причиной снижения продуктивности и увеличения падежа поголовья, что наносит существенный ущерб птицеводству [4, 5].

Чаще всего этиологическим агентом патологии являются бактерии *St. aureus*, *S. epidermidis*, *S. gallinarum*, *S. hyicus* [6]. Основным местом локализации стафилококковой инфекции у кур обычно являются кости, влагалища сухожилий и суставы конечностей, кроме того, микроорганизмы могут поражать кожу, желточный мешок, сердце, печень, суставы позвоночника и грудной клетки [7, 8]. Стафилококки способны вызывать инфекционный синовит, абсцессы, некротический геморрагический дерматит у взрослых птиц, а также омфалит у вылупившихся цыплят [4]. Кроме того, эти бактерии могут продуцировать токсины, в частности гемолизины, разрушающие эритроциты, и лейкоцидины, лизирующие лейкоцитарные клетки. Так, а-токсин, вырабатываемый микроорганизмом *St. aureus* проявляет цитолитические свойства в отношении моноцитов, лимфоцитов, тромбоцитов [9]. В связи с вышеперечисленными патологиями, обусловленными воздействием стафилококковой инфекции на организм, целью нашего исследования было изучение влияния экспериментального заражения двумя представителями рода *Staphylococcus* – *St. aureus* и *St. cohnii* на лейкоцитарную формулу крови цыплят, отражающую физиологическое состояние организма птицы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHOD

Для проведения исследований, по принципу аналогов были сформированы три группы, состоящие из цыплят кросса Хайсекс Браун месячного возраста. В ходе эксперимента все исследуемое поголовье получало рацион, сбалансированный по основным питательным и биологически активным веществам. Группы II и III были экспериментально внутрибрюшинно заражены культурами *St. aureus* (II) и *St. cohnii* (III) в концентрации 3 McF, в то время как группа I являлась контрольной. Отбор крови методом внутрисердечной пункции проводили на 1, 3, 5, 7, 9, 11 и 13 сутки после заражения. Стабилизацию отобранных проб крови проводили с использованием 3,8 % цитрата натрия.

Определяли содержание лейкоцитов в крови цыплят методом прямого подсчета в камере Горяева. В мазках крови окрашенных по Романовскому-Гимзе исследовали количество эозинофилов, базофилов, псевдоэозинофилов, лимфоцитов и моноцитов, после чего по процентному содержанию отдельных форм относительно общего числа лейкоцитарных клеток осуществляли расчет лейкограммы.

Статистическая обработка цифрового материала проведена с использованием программы SPSS Statistic 17.0, достоверность полученных результатов оценивали при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

В ходе проведенных исследований, на первые и третьи сутки опыта выявлено повышение количества лейкоцитов в крови цыплят опытных групп (таблица 1), что, вероятно, является следствием проникновения в организм бактериального агента. Тем не менее, более выраженный статистически значимый лейкоцитоз вызван заражением культурой *St. aureus* (группа II), разница с контрольными данными составила 50 % и 58 %, при этом аналогичная динамика в группе III проявилась ростом на 46 % и 41 % соответственно. Лейкоцитоз является ответной реакцией на влияние инфекционных фак-

торов, что наблюдается обычно при всех кокковых инфекциях, в том числе и стафилококкозе, кроме того повышение содержания этих клеток в крови может свидетельствовать об активном течении фагоцитарного процесса [10].

Зафиксировано статистически значимое увеличение абсолютной численности псевдоэозинофилов в крови цыплят групп II и III на первые (более 60 %) и третьи сутки (38 % и 27 %) после заражения. Однако изменения в группе II были более длительными и выявлены дополнительно на пятые сутки исследований (выше контрольных значений на 17 %) (таблицы 2-3). Вероятно, установленная псевдоэозинофилия отражает формирование иммунной реакции, так как известно, что именно эти лейкоцитарные клетки являясь первой линией защиты организма против стафилококков, быстро мигрируют в ткани, где внедряют гранулярные компоненты и токсичные окислители для эффективного фагоцитоза [11, 12].

Кроме того, практически на протяжении всего опыта зарегистрировано повышение количества других клеток, выполняющих иммунные функции – моноцитов. Моноцитоз в группе II проявился увеличением численности на 89 %, 87 %, 63 %, 88 %, 74 % и 48 % на первые, третьи, пятые, седьмые, девятые и одиннадцатые сутки опыта. Содержание моноцитов в крови цыплят группы III выросло в аналогичный временной период на 85 %, 84 %, 72 %, 88 %, 87 % и 59 % соответственно. Моноцитоз, как и ранее описан-

ная псевдоэозинофилия и лейкоцитоз, вероятно, обусловлен экспериментальным стафилококкозом, однако, выявленная динамика всех клеток более выражена в группе, зараженной *St. aureus*. Повышение количества моноцитов в крови у птиц отмечают в первую фазу процесса выздоровления при инфекционных патологиях, что обозначается как «моноцитарная защитная фаза» [13].

Содержание лимфоцитов в крови цыплят опытных групп характеризовалось неоднозначной динамикой. В группе II падение абсолютной численности этих клеток на 23 %, 33 и 46 % зафиксировано на пятые, седьмые и девятые сутки. Лимфопения в группе III установлена на первые, седьмые и девятые сутки (60 %, 33 %, 43 %). Известно, что у птиц снижение количества этих клеток в крови может быть взаимосвязано с ростом псевдоэозинофилов и носить относительный характер [14].

Рост численности базофилов в крови цыплят группы II был более длительным. Так, зарегистрирована динамика относительного количества клеток на первые, третьи, седьмые, девятые и тринадцатые сутки, где разница с контрольными данными составила 83 %, 77 %, 54 %, 43 %, 53 %. Базофилия в группе III выявлена только на третьи сутки опыта (выше на 77 %). Предполагается, что базофилы способны к проявлению некоторой фагоцитарной реакции и содержат в себе окислительные ферменты [13].

Таблица 1
Содержание лейкоцитов в крови исследуемых цыплят, $10^9 \cdot \text{л}^{-1}$

Сутки	Группа I	Группа II	Группа III
1	18,8±1,01	37,6±3,65*	27,6±1,16*
3	19,2±0,80	30,4±2,13*	27,2±1,85*
5	20,4±0,74	22,4±0,56	21,6±1,46
7	20,0±1,89	22,6±1,46	21,6±0,73
9	23,2±1,01	21,6±0,34	22,8±1,16
11	25,2±1,01	24,8±1,35	27,4±0,77
13	28,4±0,74	27,2±1,49	26,4±0,71

* – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$

Таблица 2

Динамика абсолютных значений лейкограммы цыплят, $10^9 \cdot \text{л}^{-1}$

с у т к и	Г р у п п а	Моно- циты	Лимфоциты	Эозинофилы	Псевдо-эозинофилы	Базофилы
1	I	0,37±0,05	6,53±0,60	1,42±0,22	9,65±0,39	0,3±0,09
	II	3,6±0,47*	5,05±1,97	21,64±0,24	25,6±2,47*	1,82±0,98*
	III	2,56±0,45*	2,56±0,45*	1,19±0,16	20,3±1,20*	0,98±0,14
3	I	0,42±0,07	4,39±0,59	1,54±0,22	12,14±0,48	0,22±0,03
	II	3,46±0,35*	4,51±0,41	1,69±0,21	19,6±1,46*	1,04±0,16*
	III	2,87±0,29*	4,86±0,47	2,05±0,16	16,8±1,21*	0,96±0,09*
5	I	0,36±0,11	6,39±0,28	1,02±0,15	12,14±0,59	0,36±0,06
	II	0,98±0,13*	4,9±0,17*	1,16±0,14	14,4±0,58*	0,44±0,10
	III	1,33±0,35*	5,5±0,28	1,05±0,04	13,2±1,21	0,44±0,16
7	I	0,24±0,05	6,24±0,50	1,54±0,22	11,82±1,18	0,2±0,01
	II	2,08±0,07*	4,18±0,32*	1,37±0,11	13,48±1,14	0,47±0,08
	III	2,06±0,16*	3,96±0,26*	0,97±0,20	14,26±1,36	0,34±0,04
9	I	0,37±0,10	6,9±0,44	0,99±0,16	14,6±0,90	0,32±0,05
	II	1,44±0,21*	3,72±0,17*	0,95±0,11	14,86±0,58	0,62±0,16
	III	2,98±0,04*	3,88±0,26*	0,74±0,13	13,44±0,88	0,94±0,10*
11	I	0,66±0,12	7,30±0,38	1,27±0,20	15,45±0,55	0,46±0,13
	II	1,27±0,17*	6,26±0,57	1,45±0,19	15,10±0,93	0,66±0,11
	III	1,62±0,21*	6,58±0,78	1,65±0,12	15,43±0,83	0,57±0,10
13	I	0,51±0,10	7,8±0,83	1,99±0,22	17,48±0,70	0,32±0,07
	II	0,63±0,14	6,87±0,68	1,65±0,19	17,34±0,74	0,69±0,12
	III	0,68±0,13	6,84±0,42	1,96±0,27	16,39±0,53	0,53±0,15

* – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$

Установлено кратковременное падение относительного количества эозинофильных клеток в крови цыплят на первые сутки в группах II и III (ниже на 40 % и 43 %), а также на седьмые сутки в III группе (меньше на 40 %), в дальнейшем динамика не зафиксирована. Эозинопенией характеризуется начальная стадия фор-

мирования инфекционной болезни, а последующее восстановление численности клеток соотносится с началом фазы выздоровления [13].

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Экспериментальное заражение в обеих опытных группах обусловило длительные изменения практически во всех показате-

с у т к и	Г р у п п а	Моно- циты	Лимфоциты	Эозинофилы	Псевдоэозинофилы	Базофилы
1	I	2,0±0,31	36,6±1,36	7,4±0,75	51,6±1,88	2,0±0,44
	II	10,0±0,70*	12,2±1,01*	4,4±0,74*	68,4±0,81*	5,0±0,70*
	III	11,2±1,06*	12,0±0,70*	4,2±0,58*	71,4±2,48*	3,2±0,37
3	I	2,2±0,37	25,2±2,37	8,0±1,0	63,4±2,37	1,2±0,2
	II	11,4±0,74*	14,8±0,66*	5,6±0,81	64,8±1,56	3,4±0,50*
	III	10,4±0,92*	17,8±0,86*	7,6±0,50	61,4±1,07	2,8±0,48*
5	I	1,8±0,58	32,0±1,14	5,0±0,70	59,4±0,81	1,8±0,37
	II	4,4±0,6*	22,4±1,07*	5,2±0,58	65,8±1,24*	2,0±0,44
	III	6,2±1,77*	25,8±1,15*	5,0±0,44	61,0±2,58	2,0±0,63
7	I	1,8±0,58	31,4±0,92	7,6±0,50	59,0±1,09	1,0±0,0
	II	4,4±0,6*	19,4±1,20*	6,4±0,50	62,2±1,28	2,2±0,37*
	III	6,2±1,77*	18,4±0,74*	4,6±1,07*	65,6±2,48*	1,6±0,24
9	I	1,6±0,4	30,0±2,21	4,2±0,58	62,8±1,65	1,4±0,24
	II	6,8±1,15*	17,2±0,58*	4,4±0,50	68,8±1,01	2,8±0,66*
	III	14,0±0,94*	18,0±0,70*	3,4±0,50	60,2±1,31	4,4±0,50
11	I	2,6±0,4	29,0±1,14	5,2±0,66	61,4±0,74	1,8±0,48
	II	5,2±0,73*	25,2±1,74	5,8±0,58	61,0±2,25	3,0±0,31
	III	6,2±0,56*	23,8±1,46	6,4±0,50	59,4±2,65	2,4±0,50
13	I	1,6±0,4	28,4±2,58	7,0±0,70	61,8±3,33	1,2±0,2
	II	2,4±0,6	25,0±1,22	6,0±0,44	64,0±1,58	2,6±0,50*
	III	2,6±0,50	25,8±1,31	7,4±0,92	62,4±2,01	2,0±0,54

* – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$

лях лейкоцитарной формулы с возвращением к контрольным значениям к концу опыта. Однако в группе, зараженной культурой *St. aureus* установлены более выраженные изменения, проявившиеся статистически значимым лейкоцитозом, псевдоэозинофилией, моноцитозом, лимфопенией и базофилией. Полученные

результаты в группе II, вероятно, отражают, способность этой бактерии в большей степени оказывать токсическое воздействие на организм птиц, в сравнении с влиянием *St. cohnii*.

THE IMPACT OF EXPERIMENTAL STAPHYLOCOCCOSIS ON DYNAMICS OF CHICKEN BLOOD LEUKOGRAM

Moiseeva A.A.¹ – Researcher (ORCID 0000-0003-2730-3012), **Skvortsov V.N.**¹ – supervisor (ORCID0000-0002-9629-0000), **Prisny A.A.**^{1,2} – Dr. biol. n., ved. nauch. sot. (ORCID 0000-0001-5229-8337), Logvinova S.S.¹ – ml. scientific. co-worker. (ORCID 0000-0001-7586-6667), **Gorbaneva A.S.**¹ – ml. scientific. co-worker. (ORCID 0000-0003-1128-0020).

¹ Belgorod Branch of the Federal Research Center – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences

² FGAOU HE "Belgorod State National Research University".

*annamoiseeva1202@yandex.ru

ABSTRACT

We have studied the impact of experimental staphylococcosis on the leukogram of Hisex Brown chickens. We divided the chicks into 3 groups, Group I assigned as control, Groups II and III – experimental. The chicks were challenged by intraperitoneal injection with *Staphylococcus aureus* (Group II) and *Staphylococcus cohnii* (Group III) at a concentration of 3 McFarland. The blood was drawn by cardiac puncture at days 1, 3, 5, 7, 9, 11 and 13 after the challenge. We studied the leukogram using stained blood smears. In the course of research we observed hematological parameters with lasting changes, which were more pronounced at days 1, 3, 5, 7 and 9 (in both experimental groups). We also observed an increase in the leukocyte count in the blood of chicks in Groups II and III, and a long-term pseudoeosinophilia along with monocytosis. We marked a decrease in the absolute lymphocyte count in both experimental groups, but the number returned to normal by the end of the experiment. The relative eosinophil count changed mostly in the blood of chicks in Group III, but the changes were insignificant. Basing on the data we

have obtained during the experiment; we suggest that *St. aureus* exerts a toxic effect on the chicken organism in a greater degree than *St. cohnii* does.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Бессарабов, Б.Ф. Лабораторная диагностика клинического и иммунобиологического статуса у сельскохозяйственной птицы / Б.Ф. Бессарабов, С.А. Алексеева, Л.В. Клетикова // М: КолосС. –2008. – 151 с.
2. Прудников, В.С. Болезни домашних птиц / В.С. Прудников, Ю.Г. Зелютков // Витебск: ВГАВМ. –2022 – 148 с.
3. Шевченко, А.В. Инфекционные болезни с/х птицы в Краснодарском крае / А.В. Шевченко, О.Ю. Черных, И.В. Устинович, А.Г. Жукова // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – № 2. – 137-139с.
4. Бакулин, В.А. Болезни птиц / В.А. Бакулин // СПб: Изд. В.А. Бакулин, –2006. – 687 с.
5. Лыско, С.Б. Резистентность к энрофлоксацину и возможность ее преодоления / С.Б. Лыско, Л.М. Кашковская, М.И. Сафарова // Птицеводство. – 2016. – № 10. – 37-40 с.
6. Скворцов, В.Н. Биологические свойства *Staphylococcus aureus*, выделенного от больной артритом птицы / В.Н. Скворцов, А.А. Балбуцкая // Ветеринарный врач. – 2019. – № 1. – 28-33 с.
7. Кисленко, В.Н. Ветеринарная микробиология и иммунология / В.Н. Кисленко, Н.М. Колычев, Р.Г. Госманов // М: ГЭОТАР. –2012. –752 с.
8. Saif, Y.M. Diseases of poultry / Y.M. Saif. – 12-th edition. // Iowa: Blackwell Publishing, –2008. – 1506 p.
9. Schmitt, C.K. Bacterial Toxins: Friends or Foes? / C.K. Schmitt, K. C. Meysick, A.D. O'Brien // Emerging Infectious Diseases. – 1999. Vol.5 (2). – P. 224-234.
10. Истаманова, Т.С. Очерки функциональной гематологии / Т.С. Истаманова // Ленинград: Медгиз. –1963. – 231 с.
11. Foster, T.J. Immune evasion by staphylococci / T.J. Foster // Nature reviews microbiology. –2005. – Vol. – 3. – P. 948-958.

12. Hallen, L.A. Cell intrinsic function of neutrophils and their manipulation by pathogens / L.A. Hallen, A.K. Criss // *Current Opinion in Immunology*. – 2019. – Vol. 60. – P. 124-129.

13. Никитин, В.Н. Гематологический атлас сельскохозяйственных и лабораторных животных / В.Н. Никитин // М.: Сельхозгиз. – 1956. – 191 с.

14. Васильев, Ю.Г. Ветеринарная клиническая гематология / Ю.Г. Васильев, Е.И. Трошкин, А.И. Любимов. // – 2015. – 656 с.

REFERENCES

1. Bessarabov B.F., Alekseeva S.A., Kletikova L.V. Laboratornaya diagnostika klinicheskogo i immunobiologicheskogo statusa u sel'skoxozyajstvennoj pticy. [М: КолосС]. 2008; 151 s. (In Russ.)

2. Prudnikov V.S., Zelyutkov Yu.G, Bolezni domashnix pticz. [Витебск: ВГАВМ]. 2022; 148 s. (In Russ.)

3. Shevchenko A.V., Cherny`x O.Yu., Ustinovich I.V., Zhukova A.G. Infekcionny`e bolezni s/x pticy v Krasnodarskom krae. [Труды Кубанского государственного аграрного университета]. 2014; № 2: 137-139 s. (In Russ.)

4. Bakulin V.A., Kashkovskaya L.M., Safarova M.I. Бoleзни птиц. [СПб: Изд. В.А. Бакулин]. 2006; 687 s. (In Russ.)

5. Ly`sko S.B. Rezistentnost` k e`nrofloksacinu i vozmozhnost` ee preodoleniya. [Птицеводство]. 2016; № 10: 37-40 s. (In Russ.)

6. Skvorczov, V.N., Balbuczka A.A. Biologicheskie svojstva Staphylococcus aureus, vy`delenogo ot bol`noj artritom pticy [Ветеринарный врач]. 2019; № 1: 28-33 s. (In Russ.)

7. Kislenko V.N., Koly`chev N.M., Gosmanov R.G. Veterinarnaya mikrobiologiya i immunologiya. [М: ГЭОТАР]. 2012; 752 s. (In Russ.)

8. Saif Y.M. – 12-th edition. Diseases of poultry. [Iowa: Blackwell Publishing], 2008; 1506 p.

9. Schmitt C.K., Meysick K. C., O'Brien Bacterial A.D., Schmitt C.K. Toxins: Friends or Foes? [Emerging Infectious Diseases]. 1999; Vol. 5(2): 224-234 p.

10. Istamanova T.S. Ocherki funkcional`noj. [Ленинград: Медгиз]. 1963; 231 s. (In Russ.)

11. Foster T.J. Immune evasion by staphylococci. [Nature reviews microbiology]. 2005; Vol. 3: 948-958 p.

12. Hallen L.A., Criss. A.K. Cell intrinsic function of neutrophils and their manipulation by pathogens [Current Opinion in Immunology]. 2019; Vol. 60; 124-129 p.

13. Nikitin V.N. Gematologicheskij atlas sel'skoxozyajstvenny`x i laboratorny`x zhivotny`x . [М.: Сельхозгиз]. 1956; 191 s. (In Russ.)

14. Vasil`ev Yu.G., Troshkin E.I., Lyubimov A.I. Veterinarnaya klinicheskaya gematologiya. [СПб: Лань]. 2015; 656 s. (In Russ.)