

УДК: 591.111.7:636.5.034:615.33

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.4.138

ФАГОЦИТАРНЫЕ ИНДЕКСЫ ПСЕВДО-ЭОЗИНОФИЛОВ КРОВИ ЦЫПЛЯТ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЦИПРОФЛОКСАЦИНА И ЭНРОФЛОКСАЦИНА

Присный А.А.* – д-р биол. наук, зав. лабораторией Белгородского филиала ВИЭВ (ORCID 0000-0001-5229-4576); **Скворцов В.Н.** – д-р ветеринар. наук, руководитель Белгородского филиала ВИЭВ (ORCID 0000-0002-9629-0000); **Горбанёва А.С.** – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-9629-0000); **Мазур А.Д.** – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0003-1340-8024); **Степанова Т.В.** – ст. науч. сотр. (ORCID 0000-0001-9092-8045)

ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно - исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко РАН»

*andreyprisny@gmail.com

Ключевые слова: цыплята, кровь, псевдоэозинофилы, фагоцитоз, фторхинолоны.

Key words: chicks, blood, pseudoeosinophils, phagocytosis, fluoroquinolones.

Поступила: 22.09.2024

Принята к публикации: 02.12.2024

Опубликована онлайн: 16.12.2024



РЕФЕРАТ

Изучено влияние выпаивания ципрофлоксацина и энрофлоксацина в дозе 200 мг/л на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов в крови цыплят. Ципрофлоксацин и энрофлоксацин – антибактериальные препараты фторхинолоновой группы, применяемые в ветеринарии. Наиболее распространено использование указанных лекарственных средств в птицеводстве, что обусловлено их отличными фармакодинамическими и противомикробными свойствами. Целью работы является изучение влияния фторхинолонов на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов. В исследовании было задействовано три группы, состоящие из цыплят суточного возраста кросса Хайсекс Бравун. Цыплята группы I (контроль) получали чистую воду, в то время как в группах II и III производили выпаивание ципрофлоксацина и энрофлоксацина на протяжении 10 суток с водой в дозе 200 мг/л. Отбор крови осуществляли на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после отмены препарата. Исследовали фагоцитарную активность, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс и фагоцитарную емкость псевдоэозинофилов после совместного инкубирования на протяжении 30 и 120 минут с культурой *Staphylococcus aureus*. В результате проведенных исследований влияния фторхинолонов на фагоцитарную реакцию значительного негативного воздействия препаратов не выявлено. Основные изменения при инкубации псевдоэозинофилов совместно с *St. aureus* зарегистрированы на третьи и пятые сутки. Энрофлоксацин вызвал сдвиги после 30-минутной инкубации с *St. aureus*, что проявилось в достоверном, но не продолжительном снижении фагоцитарной активности, а также неоднозначном кратковременном уменьшении с последующим повышением фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа. Все зарегистрированные изменения являлись не продолжительными.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Противомикробные препараты широко используются в современном птицеводстве в качестве терапевтических и профилактических мер для предотвращения вспышек и распространения инфекционных заболеваний [1]. Эффективными антибактериальными препаратами широкого спектра действия, успешно применяемыми в птицеводстве, являются фторхинолоны [2]. При этом, использование фармакологических агентов не должно угнетать естественные защитные силы организма. Важным элементом неспецифической иммунной защиты является фагоцитоз. Полиморфноядерные лейкоциты – многочисленные клетки, проявляющие высокую степень фагоцитарной активности. Их деятельность характеризуется значительной скоростью и интенсивностью развития реакции [3]. Псевдоэозинофилы – специфические полиморфноядерные лейкоциты, характерные для системы крови птиц. Способность к осуществлению амебoidalного движения позволяет псевдоэозинофилам проникать через эндотелий кровеносных капилляров, перемещаясь к месту расположения патогенов, и осуществлять фагоцитоз. Процесс запускается в результате контакта с живыми и погибшими микроорганизмами, а также с разрушающимися клетками собственных тканей [4]. Воздействие фторхинолонов на фагоцитирующие клетки и протекание фагоцитоза у птиц является малоизученным [5]. Подобные исследования осуществляли, преимущественно, на млекопитающих, однако существующие данные крайне противоречивы. Известно, что фторхинолоны способны к проникновению и аккумуляции в фагоцитах [6, 7]. При этом, высокие концентрации препаратов, накапливающиеся внутри клеток способны менять их метаболизм и функциональную активность [8].

В связи с вышесказанным, целью представленного исследования было изучение влияния фторхинолонов на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов крови цыплят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для достижения поставленной цели исследования были сформированы три группы, состоящие из цыплят кросса «Хайсекс Браун» суточного возраста. Все экспериментальные цыплята получали рацион, сбалансированный по основным питательным и биологически активным веществам. Группа I являлась контрольной, получавшей обычную питьевую воду, группам II и III производили выпаивание ципрофлоксацина и энрофлоксацина соответственно в дозе 200 мг/л на протяжении десяти суток. Отбор крови методом внутрисердечной пункции осуществляли на первые, третьи, пятые, седьмые и девятые сутки после отмены препаратов. Влияние фторхинолонов на фагоцитарную реакцию исследовали *in vitro* с применением культуры *Staphylococcus aureus*. Предварительно осуществляли подготовку объекта фагоцитоза – суспензии *St. aureus*, для чего использовали чистую суточную культуру бактерий, выросших на плотной питательной среде. Отбирали несколько однотипных четко изолированных колоний и переносили в пробирку со стерильным изотоническим раствором хлорида натрия, доводили плотность суспензии до 9 по стандарту McFarland. Полученный инокулянт использовали в течение 15 минут. В лунки планшета вносили по 0,02 мл гепаринизированной крови и бактериальной суспензии. Планшеты с полученной взвесью помещали в термостат при температуре 40°C. Спустя 30 и 120 минут осуществляли приготовление мазка с высушиванием на воздухе, фиксацией спиртом и окрашиванием по Романовскому-Гимзе. На мазках подсчитывали псевдоэозинофилы с поглощенными объектами фагоцитоза и число микробных тел, поглощенных одним фагоцитом. На основе полученных результатов рассчитывали фагоцитарные индексы [9, 10, 11]:

1) фагоцитарная активность псевдоэозинофилов (ФА) – характеризуется количеством клеток, вступивших в фагоцитоз

$$ФА = \frac{\text{Число фагоцитирующих клеток}}{\text{Общее число учтенных фагоцитов (100)}} \times 100;$$

2) фагоцитарный индекс (ФИ) – число фагоцитированных микробных клеток в пересчете на один учтенный фагоцит, определяется делением общего количества фагоцитированных микробных тел на количество учтенных фагоцитов;

3) фагоцитарное число (ФЧ) – отражает интенсивность реакции фагоцитоза, определяют путем деления общего количества поглощенных бактерий на число активных псевдоэозинофилов;

4) фагоцитарная емкость (ФЕ) – число активных псевдоэозинофилов в 1 мкл крови.

Обработка цифрового материала проведена с использованием программного обеспечения SPSS Statistic 17.0, статистическую значимость полученных результатов оценивали при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Вследствие проведенных исследований показателей фагоцитоза установлены непродолжительные статистически значимые изменения. Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов при 30-минутной инкубации с культурой *St. aureus*, был снижена в группах, принимавших ципрофлоксацин и энрофлоксацин, соответственно на 23 % и 24% на третьи сутки после отмены препаратов. В последующем достоверных отличий не выявлено. На седьмые и девятые сутки у цыплят,

получавших энрофлоксацин, после 120-минутной экспозиции зарегистрировано увеличение фагоцитарной активности псевдоэозинофилов на 11 % и 18 % соответственно (табл. 1).

Снижение значений фагоцитарного индекса после 30-минутной экспозиции было зафиксировано в группах II и III, что проявилось в достоверном падении показателей на третьи сутки (на 37 % и 40 %), однако на пятые сутки установлен рост показателя в группах на 39 % и 58 % соответственно.

На третьи сутки исследования произошло падение значений фагоцитарного числа псевдоэозинофилов после 30-минутной экспозиции в группе энрофлоксацина на 21 %, а на пятые сутки в этой группе зарегистрировано повышение показателя на 40 %, кроме того, увеличение на 29 % отмечено и в группе ципрофлоксацина (табл. 2).

Увеличение значений фагоцитарной емкости произошло на третьи сутки в группах II и III на 27 % и 24 % соответственно.

Анализируя полученные данные, можно предположить, что фторхинолоновые препараты оказывают определенное влияние на функциональность клеток фагоцитарной системы цыплят, о чем свидетельствует увеличение ряда исследованных показателей. Кроме того, в связи с ростом значений полученных данных, можно предположить наличие у препара-

Таблица 1 – Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов в крови цыплят, получавших ципрофлоксацин и энрофлоксацин (группы II и III)

Показатель	Группа	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки	9 сутки
ФА 30 минут, %	I	28,3±1,56	40,7±2,11	33,7±2,81	40,5±2,45	39,8±1,41
	II	30,0±2,11	31,2±1,31**	39,3±1,17	37,5±1,09	39,8±1,13
	III	33,8±1,05	30,7±1,41**	41,8±2,89	40,3±2,08	41,5±1,56
ФА 120 минут, %	I	45,7±0,71	47,5±1,76	49,8±1,62	46,2±1,85	46,0±1,55
	II	44,5±1,45	48,7±0,95	55,2±2,06	45,7±1,33	51,0±2,49
	III	44,8±1,01	47,8±1,22	52,5±2,59	52,2±1,28*	56,7±2,81**

Примечание: ФА – фагоцитарная активность; ** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,01$; * – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$.

тов некоторого иммуностимулирующего эффекта. Обнаруженные волнообразные сдвиги отдельных значений, возможно, обусловлены применением фторхиноло-

нов, однако, это может быть взаимосвязано и с возрастом цыплят, у которых только происходит формирование и становление иммунитета.

Таблица 2 – Фагоцитарное число псевдоэозинофилов крови цыплят, получавших ципрофлоксацин и энрофлоксацин (группы II и III)

Показатель	Сутки	Группа I	Группа II	Группа III
ФЧ 30 минут, у.е.	1	1,98±0,14	1,79±0,14	1,61±0,03
	3	2,59±0,11	2,14±0,26	2,04±0,15**
	5	1,66±0,08	2,34±0,21**	2,78±0,32**
	7	2,89±0,39	2,77±0,39	2,06±0,16
	9	2,35±0,17	2,12±0,14	2,64±0,14

Примечание: ФЧ – фагоцитарное число; ** – статистически достоверные различия между значениями параметров в контрольной и группах опыта по U-критерию Манна-Уитни при $p < 0,01$.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенные исследования влияния ципрофлоксацина и энрофлоксацина на фагоцитарную реакцию значительного воздействия препаратов не выявили. Основные изменения при инкубации псевдоэозинофилов совместно с *St. aureus* зарегистрированы на третьи и пятые сутки. Энрофлоксацин вызвал сдвиги после 30-минутной инкубации с *St. aureus*, что проявилось в статистически значимом, но непродолжительном снижении фагоцитарной активности, а также неоднозначных кратковременных флуктуациях значений фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа. Все зарегистрированные изменения непродолжительны и малоинформативны. Следует отметить, что, несмотря на существующие данные об усилении ципрофлоксацином киллинга *St. aureus* полиморфоядерными лейкоцитами [12], в наших исследованиях существенного влияния препарата на фагоцитоз не установлено.

PHAGOCYTIC INDICES OF BLOOD PSEUDOEOSINOPHILS WITH THE USE OF CIPROFLOXACIN AND ENROFLOXACIN

Prisnyi A.A.* – Dr. Biol. Sci., Head of Laboratory FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0001-9380-4136); Skvortsov V.N. – Dr. Vet. sci., Head of Bel-

gorod Department of FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000 0002 9629 0000); Gorbaneva A.S. – Junior Researcher (ORCID 0000-0002-9629-0000); Mazur A.D., Junior Researcher (ORCID 0000-0003-1340-8024); Stepanova T.V. – Senior Researcher (ORCID 0000-0001-9092 -8045)

FGBNU "Federal Scientific Centre – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Ya.R. Kovalenko of Russian Academy of Sciences"

*andreyprisny@gmail.com

ABSTRACT

The effect of drinking ciprofloxacin and enrofloxacin at a dose of 200 mg/l on phagocytosis of pseudoeosinophils in the blood of chickens was studied. Ciprofloxacin and enrofloxacin are antibacterial drugs of the fluoroquinolone group used in veterinary medicine. The most common use of these drugs in poultry farming is due to their excellent pharmacodynamic and antimicrobial properties. The aim of the work is to study the effect of fluoroquinolones on the phagocytosis of pseudoeosinophils. The study involved three groups consisting of day-old chickens of the Haysex Braun cross. Chickens of group I (control) received clean water, while in groups II and III ciprofloxacin and

enrofloxacin were soldered for 10 days with water at a dose of 200 mg/l. Blood sampling was performed on the 1, 3, 5, 7 and 9 days after drug withdrawal. The phagocytic activity, phagocytic number, phagocytic index and phagocytic capacity of pseudoeosinophils were studied after co-incubation for 30 and 120 minutes with a culture of *Staphylococcus aureus*. As a result of the conducted studies of the effect of fluoroquinolones on the phagocytic reaction, no significant negative effects of the drugs were revealed. The main changes during incubation of pseudoeosinophils together with *St. aureus* were registered on the third and fifth days. Enrofloxacin caused shifts after 30-minute incubation with *St. aureus*, which manifested itself in a significant but not prolonged decrease in phagocytic activity, as well as an ambiguous short-term decrease followed by an increase in the phagocytic index and phagocytic number. All registered changes were short-lived.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Huyghebaert, G. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers / G. Huyghebaert, R. Ducatelle, F. Immerseal // The Veterinary Journal. – 2011. – Vol. 187 – P. 182-188.
2. Zhu, D. Prevalence of fluoroquinolone resistance and mutations in the gyr A, par C and par E genes of *Riemerella anatipigti* isolated from ducks in China / D. Zhu, M. Zheng, J. Xu, M. Wang, R. Jia // BMC Microbial. – 2019. – Vol. 19. – P. 274-278.
3. Игнатов, П.Е. Иммуитет и инфекция. Возможность управления / П.Е. Игнатов. – М: Время, 2002. – 352 с.
4. Гудин, В.А. Физиология и этология сельскохозяйственных птиц / В.А. Гудин, В.Ф. Лысов, В.И. Максимов. – СПб: Лань, 2010. – 336 с.
5. Prisnyi, A.A. Analysis of Dynamics of Phagocytic Indices in Ducklings Caused by Administration of Enrofloxacin / A.A. Prisnyi, A.A. Moiseeva, V.N. Skvortsov, S.S. Belimova // AIP Conference Proceedings. – 2022. – Vol. 2467. – 070029. – DOI 10.1063/5.0092593. Режим доступа: [https://pubs.aip.org/aip/acp/article-](https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/2467/1/070029/2826724/Analysis-of-dynamics-of-phagocytic-indices-in?redirectedFrom=fulltext)

[abstract/2467/1/070029/2826724/Analysis-of-dynamics-of-phagocytic-indices-in?redirectedFrom=fulltext](https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/2467/1/070029/2826724/Analysis-of-dynamics-of-phagocytic-indices-in?redirectedFrom=fulltext)

6. Михайлов, В.В. Антимикробная активность комплексного препарата ципровентор / В.В. Михайлов, И.В. Ульянов, Д.Н. Филимонов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. – № 4. – С. 116-120.
7. Соболев, В.П. Современные возможности выбора препаратов для этиотропной терапии / В.П. Соболев, Е.И. Петрова // Медицинский совет. – 2017. – № 8. – С. 124-129.
8. Никитин, А.В. Методические подходы к изучению действия антибиотиков на иммунную систему / А.В. Никитин // Антибиотики и химиотерапия. – 1990. – Т. 35. – № 8. – С. 45-48.
9. Кудрявцев, А.А. Клиническая гематология животных / А.А. Кудрявцев, Л.А. Кудрявцева. – М.: Колос, 1974. – 339 с.
10. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных: метод. рекомендации / Россельхозакадемия, Сиб. отделение, ГНУ ИЭВСиДВ, ГНУ ВИЭВ, ФГОУ НРИПК АПК МСХ РФ, НГАУ. – Новосибирск, 2003. – 32 с.
11. Кисленко, В.Н. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии / В.Н. Кисленко. – М.: КолосС, 2005. – 232 с.
12. Forsgren, A. Effect of ciprofloxacin on phagocytosis / A. Forsgren, P. Bergkvist // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 1985. – Vol. 4 (6). – P. 575-578. – DOI 10.1007/BF02013398. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2936604/>

REFERENCES

1. Huyghebaert, G. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers / G. Huyghebaert, R. Ducatelle, F. Immerseal // The Veterinary Journal. – 2011. – Vol. 187 – P. 182-188.
2. Zhu, D. Prevalence of fluoroquinolone resistance and mutations in the gyr A, par C and par E genes of *Riemerella anatipigti* isolated from ducks in China / D. Zhu, M. Zheng, J. Xu, M. Wang, R. Jia // BMC Mi-

- crobial. – 2019. – Vol. 19. – P. 274-278.
3. Ignatov, P.E. Immunity and infection. The possibility of management / P.E. Ignatov. – Moscow: Vremya, 2002. – 352 p. (In Russ.)
4. Gudin, V.A. Physiology and ethology of farm birds / V.A. Gudin, V.F. Lysov, V.I. Maksimov. – St. Petersburg: Lan, 2010. – 336 p. (In Russ.)
5. Prisnyi, A.A. Analysis of Dynamics of Phagocytic Indices in Ducklings Caused by Administration of Enrofloxacin / A.A. Prisnyi, A.A. Moiseeva, V.N. Skvortsov, S.S. Belimova // AIP Conference Proceedings. – 2022. – Vol. 2467. – 070029. – DOI 10.1063/5.0092593. URL: <https://pubs.aip.org/aip/acp/article-abstract/2467/1/070029/2826724/Analysis-of-dynamics-of-phagocytic-indices-in?redirectedFrom=fulltext>
6. Mikhailov, V.V. Antimicrobial activity of the complex drug ciproventor / V.V. Mikhailov, I.V. Ulyanov, D.N. Filimonov // Issues of regulatory regulation in veterinary medicine. – 2014. – № 4. – P. 116-120. (In Russ.)
7. Sobolev, V.P. Modern possibilities of choosing drugs for etiotropic therapy / V.P. Sobolev, E.I. Petrova // Medical Council. – 2017. – № 8. – P. 124-129. (In Russ.)
8. Nikitin, A.V. Methodological approaches to the study of the effect of antibiotics on the immune system / A.V. Nikitin // Antibiotics and chemotherapy. – 1990. – Vol. 35. – № 8. – P. 45-48. (In Russ.)
9. Kudryavtsev, A.A. Clinical hematology of animals / A.A. Kudryavtsev, L.A. Kudryavtseva. – M.: Kolos, 1974. – 339 p. (In Russ.)
10. Assessment of the natural resistance of farm animals: a methodological recommendations / Russian Agricultural Academy, Siberian Branch, GNU IEVSiDV, GNU RES, FGOU NRIPK Agroindustrial Complex of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation, NGAU. – Novosibirsk, 2003. – 32 p. (In Russ.)
11. Kislenko, V.N. Practicum on veterinary microbiology and immunology / V.N. Kislenko. – M.: KolosS, 2005. – 232 p. (In Russ.)
12. Forsgren, A. Effect of ciprofloxacin on phagocytosis / A. Forsgren, P. Bergkvist // European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. – 1985. – Vol. 4 (6). – P. 575-578. – DOI 10.1007/BF02013398. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2936604/>