

УДК: 591.111.7:636.5.034:615.33

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2025.1.38

ПСЕВДОЭОЗИНОФИЛЬНЫЙ ФАГОЦИТОЗ КРОВИ ЦЫПЛЯТ ПОД ВЛИЯНИЕМ РАЗНЫХ ДОЗ ЭНРОФЛОКСАЦИНА В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САЛЬМОНЕЛЛЕЗА

Присный А.А.* – д-р биол. наук, гл. науч. сотр. Белгородского филиала ВИЭВ (ORCID 0000-0001-5229-4576); Горбанёва А.С. – мл. науч. сотр. (ORCID 0000-0002-9629-0000); Кравцова А.Р. – мл. науч. сотр. (ORCID 0009-0009-9768-953X); 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, энрофлоксацин.

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

Поступила: 31.01.2025

Принята к публикации: 06.03.2025

Опубликована онлайн: 26.03.2025



РЕФЕРАТ

Целью исследования было изучение влияния разных доз энрофлоксацина на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов крови цыплят в условиях экспериментального сальмонеллеза. Изучено влияние выпаивания энрофлоксацина в дозах 200 мг/л и 100 мг/л на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов в крови цыплят. Энрофлоксацин – антибактериальный препарат группы фторхинолонов, применяемый в ветеринарии. Использование указанного лекарственного средства наиболее широко представлено в птицеводстве, вследствие его отличных фармакодинамических и противомикробных свойств. Целью работы является изучение влияния энрофлоксацина на показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов в условиях экспериментального сальмонеллеза, вызванного культурой *Salmonella infantis*. В исследовании было задействовано четыре группы, состоящие из цыплят суточного возраста кросса Хайсекс Браун. Цыплята группы I (интактный контроль) получали чистую воду, в то время как в группах III и IV производили выпаивание энрофлоксацина на протяжении 5 суток с водой в дозах 200 мг/л и 100 мг/л соответственно. Отбор крови осуществляли на вторые, четвертые, шестые, восьмые и десятые сутки после отмены препарата. Исследовали фагоцитарную активность, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс и фагоцитарную емкость псевдоэозинофилов после совместной инкубации на протяжении 30 и 120 минут с культурой *Staphylococcus aureus*. Влияние энрофлоксацина в дозе 200 мг/л проявилось в кратковременном повышении фагоцитарной активности, фагоцитарного индекса и фагоцитарной емкости псевдоэозинофилов после 30-минутной

экспозиции. Наиболее существенные изменения фагоцитарной активности, фагоцитарного индекса и фагоцитарной емкости псевдоэозинофилов выявлены в экспериментально зараженных группах, получавших энрофлоксацин в дозе 100 мг/л, а также чистую воду. Все зарегистрированные изменения являлись непродолжительными.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Современное птицеводство характеризуется активным применением антимикробных препаратов для терапии и профилактики инфекционных заболеваний [1]. Фторхинолоны зарекомендовали себя как эффективные средства широкого спектра действия, которые успешно применяются в птицеводстве [2]. Однако, следует учитывать возможное влияние фармакологических агентов на естественные защитные силы организма. Одним из ключевых элементов неспецифической иммунной защиты организма является фагоцитоз. Самыми многочисленными клетками, проявляющими высокую степень фагоцитарной активности, являются полиморфноядерные лейкоциты (ПМЯЛ). ПМЯЛ характеризуются высокой скоростью и интенсивностью развития неспецифических иммунных реакций [3]. Псевдоэозинофилы – особые ПМЯЛ, которые характерны для системы крови птиц. Способность к осуществлению амебоидного движения позволяет псевдоэозинофилам проникать через эндотелий кровеносных капилляров, перемещаясь, таким образом, к месту расположения патогенов. Процесс фагоцитоза запускается вследствие контакта с микробами, а также с лизирующимися собственными клетками [4]. Воздействие антимикробных препаратов на ПМЯЛ и течение процесса фагоцитоза у птиц малоизучено [5]. Такие исследования проводят, обычно, на млекопитающих, при этом полученные результаты очень неоднозначны. Известные исследования свидетельствуют о том, что фторхинолоны способны проникать и накапливаться в фагоцитах [6, 7]. Высокие концентрации препаратов, накапливающиеся внутри клеток, приводят к изменению метаболизма и функциональной активности [8].

В связи с вышесказанным, целью исследования было изучение влияния разных доз энрофлоксацина на показатели

фагоцитоза псевдоэозинофилов крови цыплят в условиях экспериментального сальмонеллеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для достижения поставленной цели исследования были сформированы четыре группы, состоящие из цыплят кросса «Хайсекс Браун» суточного возраста. Все экспериментальные цыплята получали рацион, сбалансированный по основным питательным и биологически активным веществам. Группа I (интактный контроль) получала обычную питьевую воду, группам III и IV производили выпаивание энрофлоксацина соответственно в дозе 200 мг/л и 100 мг/л на протяжении пяти суток. На вторые сутки после начала выпаивания энрофлоксацина осуществили внутрибрюшинное заражение цыплят групп II, III и IV культурой *Salmonella infantis* в дозе 30 млн КОЕ на голову. Отбор крови методом внутрисердечной пункции осуществляли на вторые, четвертые, пятые, восьмые и десятые сутки после отмены препарата. Влияние энрофлоксацина на фагоцитарную реакцию исследовали *in vitro* с применением культуры *Staphylococcus aureus*. 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

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

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

Исследование фагоцитоза при действии энрофлоксацина в условиях экспериментального сальмонеллеза показало существенные изменения в опытных группах. Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов достоверно увеличивалась во вторые сутки опыта в группах III и IV на 26 % и 30 % соответственно (табл. 1).

На четвертые сутки происходил рост в группах II, III и IV на 21 %, 30 % и 32 % соответственно (табл. 1). Дальнейшее увеличение показателя установлено только на шестые сутки во II (10 %) и IV (26 %) группах. При этом следует отметить, что повышение фагоцитарной активности после 120-минутной инкубации выявлено только на восьмые сутки в группе II (больше на 13 %), а также на десятые сутки в группах II и IV на 11 % и 10 % соответственно (табл. 2).

Таблица 1 – Показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов цыплят после 30-минутной экспозиции

Группа	Сутки	ФА, %	ФИ, у.е.	ФЧ, у.е.	ФЕ, 10 ⁹ ·л ⁻¹
I	2	23,8±1,47	0,56±0,05	2,35±0,11	3,07±0,31
	4	19,3±1,23	0,43±0,03	2,20±0,07	2,09±0,19
	6	30,5±0,85	0,72±0,02	2,36±0,09	3,43±0,23
	8	37,3±1,38	0,83±0,06	2,23±0,12	4,02±0,47
	10	39,2±1,64	0,95±0,04	2,43±0,09	4,66±0,46
II	2	27,3±1,36	0,63±0,02	2,33±0,11	5,09±0,23**
	4	24,5±1,33*	0,53±0,06	2,14±0,13	3,89±0,39**
	6	37,0±1,31**	0,82±0,02**	2,24±0,12	5,73±0,31**
	8	38,5±1,23	0,91±0,04	2,36±0,06	6,76±0,36**
	10	38,8±1,08	1,01±0,06	2,59±0,13	6,73±0,37
III	2	30,2±2,33*	0,67±0,03	2,31±0,25	5,38±0,59**
	4	28,7±1,26**	0,54±0,02**	1,89±0,11*	3,93±0,12**
	6	32,0±1,26	0,71±0,04	2,21±0,07	4,69±0,21**
	8	40,0±2,08	0,96±0,06	2,39±0,07	6,48±0,48**
	10	38,0±1,46	0,87±0,08	2,29±0,17	5,19±0,28
IV	2	32,2±2,82*	0,77±0,08*	2,39±0,11	6,06±0,69**
	4	27,8±2,06**	0,68±0,03*	2,47±0,12	3,82±0,24**
	6	41,5±1,78**	0,98±0,08**	2,36±0,13	6,55±0,38**
	8	39,3±1,93	0,93±0,06	2,36±0,09	7,02±0,49**
	10	39,7±2,33	1,08±0,09	2,72±0,14	6,03±0,42

Примечание: ФА – фагоцитарная активность, ФИ – фагоцитарный индекс, ФЧ – фагоцитарное число, ФЕ – фагоцитарная емкость; ** – 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 $p < 0,05$.

После 30-минутной экспозиции зафиксировано увеличение фагоцитарного индекса на вторые, четвертые и шестые сутки в группе IV на 27 %, 26 % и 36 % соответственно, кроме того на четвертые сутки в группе III показатель был выше контрольных значений на 23 %, а на шестые сутки в группе II отмечена статистически значимая разница, составляющая 12 % (табл. 1).

Маловыраженные изменения фагоцитарного индекса выявлены после 120-минутной инкубации – достоверные отличия зафиксированы на четвертые и шестые сутки в группе IV (выше на 28 % и 26 %) и на четвертые и десятые сутки в группе II, что больше контрольных значений на 14 % и 15 % соответственно (табл. 2).

Продолжительный сдвиг значений фагоцитарной емкости крови выявлен после 30-минутной экспозиции. Статистически значимый рост установлен во

всех опытных группах на протяжении почти всего исследования (табл. 1). Так, на вторые сутки в группах II, III и IV обнаружена разница в 43 %, 49 % и 39 % относительно контроля, а на шестые – 36 %, 47 % и 40 % соответственно. Повышение фагоцитарной емкости зарегистрировано и на восьмые сутки, что в группах II, III и IV составило 38 %, 42 % и 40 % соответственно. На десятые сутки после отмены препарата изменений показателя в опытных группах не зафиксировано. Похожие результаты получены после 120-минутной экспозиции (табл. 2); уже к четвертым суткам увеличение фагоцитарной емкости произошло в группах II, III и IV на 27%, 25 % и 36 % соответственно. Рост фагоцитарной емкости крови во всех опытных группах отмечен и на восьмые сутки, но к десятым суткам исследования, разница в 30 % и 38 % зарегистрирована только в группах II и IV.

Таблица 2 – Показатели фагоцитоза псевдоэозинофилов крови цыплят после 120-минутной экспозиции

Группа	Сутки	ФА, %	ФИ, у.е.	ФЧ, у.е.	ФЕ, $10^9 \cdot \text{л}^{-1}$
I	2	33,3±3,28	0,95±0,06	2,92±0,17	4,34±0,65
	4	36,5±1,48	0,86±0,03	2,39±0,13	3,94±0,29
	6	39,5±2,04	1,05±0,06	2,67±0,14	4,44±0,35
	8	43,0±1,51	1,17±0,12	2,70±0,19	4,58±0,47
	10	41,8±1,01	1,29±0,07	3,08±0,15	5,01±0,51
II	2	32,3±2,96	0,74±0,08	2,27±0,13*	6,04±0,59
	4	39,0±0,77	1,01±0,04**	2,59±0,08	6,17±0,42**
	6	43,3±1,23	1,21±0,07	2,79±0,15	6,74±4,11**
	8	49,7±1,78*	1,34±0,07	2,69±0,08	8,71±0,44**
	10	47,0±0,93**	1,53±0,08*	3,25±0,12	8,13±0,36**
III	2	25,2±2,04	0,67±0,08	2,66±0,18	4,53±0,54
	4	39,0±2,22	0,93±0,14	2,34±0,21	5,35±0,27**
	6	42,5±1,23	1,25±0,08	2,93±0,13	6,29±0,44**
	8	46,5±0,88	1,27±0,06	2,74±0,09	7,51±0,09*
	10	44,3±2,35	1,33±0,07	3,00±0,11	6,06±0,39
IV	2	31,2±2,27	0,81±0,09	2,58±0,09	5,95±0,71
	4	38,0±0,89	1,12±0,07*	2,94±0,16	5,25±0,26**
	6	44,8±2,36	1,42±0,09**	3,17±0,09*	7,00±0,15**
	8	45,8±0,79	1,16±0,08	2,53±0,14	8,17±0,39
	10	46,8±0,83**	1,46±0,07	3,11±0,13	7,16±0,44*

Примечание: ФА – фагоцитарная активность, ФИ – фагоцитарный индекс, ФЧ – фагоцитарное число, ФЕ – фагоцитарная емкость, ** – 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 $p < 0,05$.

Незначительной оказалась динамика значений фагоцитарного числа псевдоэозинофилов как после 30-минутной, так и 120-минутной экспозиции.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Использование энрофлоксацина в дозе 200 мг/л оказало небольшое влияние на протекание фагоцитоза, что проявилось в кратковременном повышении фагоцитарной активности, фагоцитарного индекса и фагоцитарной емкости псевдоэозинофилов после 30-минутной экспозиции, при этом регистрируемые изменения происходили, преимущественно, только в начале исследования. После 120-минутной экспозиции обнаружено малозначимое увеличение фагоцитарной емкости. Наиболее выраженные и длительные изменения фагоцитарной активности, фагоцитарного индекса и фагоцитарной емкости псевдоэозинофилов выявлены в экспериментально зараженных группах, получавших энрофлоксацин в дозе 100 мг/л, а также чистую воду. При этом, вероятно, что использование концентрации 100 мг/л малоэффективно и не способствует в полной мере подавлению действия патогенных агентов.

PSEUDOEOSINOPHILIC PHAGOCYTOSIS OF CHICKEN BLOOD UNDER THE INFLUENCE OF DIFFERENT DOSES OF ENROFLOXACIN IN EXPERIMENTAL SALMONELLOSIS

Prisnyi A.A.* – Dr. Biol. Sci., Principal Researcher FGBNU "Federal Scientific Centre VIEV" (ORCID 0000-0001-9380-4136); **Gorbaneva A.S.** – Junior Researcher (ORCID 0000-0002-9629-0000); **Kravtsova A.R.**, Junior Researcher (ORCID 0009-0009-9768-953X); **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 aim of the study was to investigate the effect of different doses of enrofloxacin on the indices of phagocytosis of pseudoeosinophils in the blood of chickens under conditions of experimental salmonellosis. The effect of enrofloxacin in doses of 200 mg/l and 100 mg/l on the phagocytosis of pseudoeosinophils in the blood of chickens was studied. Enrofloxacin is an antibacterial drug of the fluoroquinolone group used in veterinary medicine. The use of this medicinal product is most widely represented in poultry farming, due to its excellent pharmacodynamic and antimicrobial properties. The aim of this work is to study the effect of enrofloxacin on pseudoeosinophil phagocytosis in experimental salmonellosis caused by *Salmonella infantis* culture. The study involved four groups consisting of day-old chicks of the Haysex Brown cross. Chickens of group I (intact control) received pure water, while in groups III and IV, enrofloxacin was drunk for 5 days with water at doses of 200 mg/l and 100 mg/l, respectively. Blood sampling was performed on the second, fourth, sixth, eighth and tenth days after drug withdrawal. Phagocytic activity, phagocytic number, phagocytic index, and phagocytic capacity of pseudoeosinophils were studied after co-incubation for 30 and 120 minutes with *Staphylococcus aureus* culture. The effect of enrofloxacin at a dose of 200 mg/l was manifested in a short-term increase in phagocytic activity, phagocytic index, and phagocytic capacity of pseudoeosinophils after 30 minutes of exposure. The most significant changes in phagocytic activity, phagocytic index, and phagocytic capacity of pseudoeosinophils were detected in experimentally infected groups receiving enrofloxacin at a dose of 100 mg/l, as well as pure water. 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. Присный, А.А. Фагоцитарные индексы псевдоэозинофилов крови цыплят при применении ципрофлоксацина и энрофлоксацина / А.А. Присный, В.Н. Скворцов, А.С. Горбанёва, А.Д. Мазур, Т.В. Степанова // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 4. – С. 138-143.
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 Microbial. – 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. Phagocytic indices of blood pseudoeosinophils with the use of ciprofloxacin and enrofloxacin / A.A. Prisnyi, V.N. Skvortsov, A.S. Gorbaneva, A.D. Mazur, T.V. Stepanova // International bulletin of Veterinary Medicine. – 2024. – Vol. 4. – P. 138-143. (In Russ.)
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/>