

УДК 619:616.98:579.873.21 Т – 07

ХАРАКТЕРИСТИКА ИКС ЖВАЧНЫХ ПРИ АССОЦИАТИВНОМ РАЗВИТИИ ИНФЕКЦИИ ЛЕЙКОЗА И ТУБЕРКУЛЁЗА

¹П.Н. Смирнов, доктор ветеринарных наук, профессор

¹Л.М. Ерова, кандидат ветеринарных наук, доцент

²В.Н. Донченко, кандидат биологических наук

³О.П. Колесникова, доктор медицинских наук, зав. лабораторией

²А.С. Донченко, доктор ветеринарных наук, академик

³А.Н. Трунов, доктор медицинских наук, профессор

¹Новосибирский государственный аграрный университет

²Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН

³НИИ клинической иммунологии РАН

Ключевые слова: экспериментальная микс-инфекция, моноинфекция, лейкоз, туберкулёз крупного рогатого скота, *M. bovis*, BLV, иммунная система, естественная резистентность, иммунодефицит.

В контролируемом опыте, при экспериментально вызванных инфекциях у телят, зараженных BLV и *M. bovis* в моно- и ассоциированном вариантах, изучено развитие иммунологического дефекта в динамике (до 307 дней наблюдений). Развитие экспериментальной инфекции *M. bovis* и BLV в моновариантах сопровождается угнетением иммунной системы: снижением пролиферативной активности лимфоцитов на разные митогены, а также понижением фагоцитарной активности макрофагов. При ассоциативном варианте изучаемых инфекций наиболее выраженный иммунологический дефект развивается при наложении инфекции BLV на *M. bovis* и характеризуется снижением показателей как клеточного, так и гуморального звеньев ИКС. В группе телят, инфицированных по схеме «BLV+ *M. bovis*» специфический ответ на ППД-туберкулин для млекопитающих регистрировали к 4-му месяцу, а к 6-му он достигал максимума, существенно превышая этот показатель в группе животных с туберкулёзной моноинфекцией, а затем постепенно снижался. Реакция на Т- и В-митогены также была повышена, что подтверждает иммуностимулирующий эффект BLV в сравнении с моноинфекцией туберкулёза. В случае первоначального заражения туберкулёзом и последующего инфицирования BLV специфический ответ на ППД-туберкулин регистрировали также к 4-му месяцу, который сохранился на протяжении всего последующего периода наблюдения, в отличие от животных двух предыдущих групп.

CHARACTERISTICS ICS RUMINANT AT ASSOCIATIVE DEVELOPMENT OF INFECTIONS AND TUBERCULOSIS LEUKEMIA

¹P.N. Smirnov, Doctor of Veterinary Science, Professor

¹L.M. Erova, Candidate of veterinary sciences, associate professor

²V.N. Donchenko, Ph.D.

³O.P. Kolesnikov, MD, Head. Laboratory

²A.S. Donchenko, Doctor of Veterinary Sciences, Academician

³A.N. Trunov, MD, Professor

¹Novosibirsky State Agrarian University

²Siberian Federal Agri-Science Center RAS

³NI Clinical Immunology, Russian Academy of Sciences

Key words: experimental mix-infection monoinfection, leukemia, tuberculosis in cattle, *M. bovis*, BLV, the immune system, natural resistance and immune deficiency.

In a controlled experiment, with experimentally-induced infections in calves infected with BLV and *M. bovis* in mono- and associated options, studied the development of the immunological defect in dynamics

(up to 307 days of observations). The development of the experimental M. bovis infection and BLV in monovariantah accompanied by inhibition of the immune system: decrease in lymphocyte proliferative activity on different mitogens, as well as a decrease in the phagocytic activity of macrophages. In an associative form of infections studied most pronounced immunological defect develops when applying BLV infection on M. bovis and is characterized by a decrease in both cellular and humoral ICS. In the group of calves infected by the scheme «BLV + M. bovis» specific response to PPD tuberculin for mammals were recorded in the 4th month, and the 6th, he reached the peak, significantly exceeding the figure in the group of animals with tuberculosis monoinfected and then gradually decreased. Reaction to T- and B as mitogens was increased, confirming the immunostimulatory effect compared with BLV monoinfection tuberculosis. In the case of the initial infection and subsequent TB infection BLV specific response to PPD tuberculin was recorded as the 4th month, which has been preserved throughout the entire follow-up period, in contrast to the previous two groups of animals.

В 1969 г. П. Ф. Здродовский писал, что явления инфекции и иммунитета можно объяснить реактивностью, поскольку, с одной стороны, всякий инфекционный процесс возникает лишь при наличии и в результате реактивного взаимодействия макро- и микроорганизма. К тому же в самом процессе инфекции в результате аллергических изменений решающее значение имеют патогенетические механизмы, целиком связанные с измененной под влиянием инфекции реактивностью организма.

Следует отметить, что в этот же период L. Rossi [1] все состояния качественно измененной реактивности во всем разнообразии их патологии, патогенеза и форм проявления объединил в обширную группу «патергий», подразумевая под последней все явления врожденного или приобретенного изменения чувствительности организма в отношении любого агента – биологического, химического или физического, включая сюда и все явления иммунитета. Из обширной группы патергий L. Rossi отмечал, что для патогенеза инфекционных процессов особенно важны те, которые возникают в организме в различных условиях сенсibilизации и соответствуют состоянию, известному под названием аллергии и парааллергии.

По мнению академика Р. В. Петрова, аллергию, как хроническую патологию, следует рассматривать в качестве аутоиммунного заболевания.

По мнению автора, в ряду регуляторных систем макроорганизма на втором месте после центральной нервной системы (ЦНС) можно уверенно поставить иммунокомпетентную систему (ИКС). В функциональном отношении ИКС выполняет «иммунологический надзор» за генетическим постоянством соматических клеток организма [1].

В контексте заявленной проблемы «об ассоциативном развитии инфекций туберкулеза и лейкоза» следует отметить, что имеется большая группа фактов, косвенно свидетельствующих в пользу существования иммунного надзора, и об иммунодепрессивном эффекте большинства, если не всех, воздействий, приводящих к возникновению злокачественных новообразований [3–6].

Роль же других систем противоопухолевой защиты, в частности системы естественной резистентности, была незаслуженно забыта. Однако еще Р. Клейн высказал предположение о том, что иммунологический (специфический) надзор вряд ли является единственным, возникшим в эволюции, механизмом защиты организма от потенциально злокачественных клеток [7].

При заражении жвачных, в том числе крупного рогатого скота, в организме развивается иммунитет и аллергия. Применительно к фтизиатрии иммунитет следует рассматривать как невосприимчивость (чаще относительную) к первичному инфицированию, а в дальнейшем и к суперинфекции, в результате чего организм либо не инфицируется вообще, что наблюдается крайне редко, либо болезнь протекает бессимптомно, организм преодолевает его самостоятельно.

Если в моноварианте учеными изучены характеристики ИКС у жвачных при лейкозе и туберкулёзе, то в ассоциированном варианте такие данные представлены лишь в единичных публикациях. И это при том, что практически в 100% случаев неблагоприятные по туберкулёзу крупного рогатого скота стада одновременно неблагоприятны и по лейкозу [8].

В заключение следует отметить, что комплекс иммунологических расстройств, развивающихся в организме как больного лейкозом животного, так и в состоянии бессимптомной инфекции BLV, формирует состояние риска, а отсюда и все вытекающие последствия. Находясь в стаде, неблагоприятном по другим хроническим инфекциям, такие животные сталкиваются с весьма уязвимыми объектами для атаки различных инфекционных агентов вирусной и бактериальной природы. Следовательно, распознавание особенностей иммунного ответа у животных при ассоциативных инфекциях, в том числе сочетанном течении лейкоза и туберкулёза, представлялось актуальной научно-практической задачей. По мнению ряда исследователей, общей чертой в развитии туберкулёза и лейкоза у крупного рогатого скота является нарушение функции ретикуло-гистиоцитокириной системы (РГС), а в самой основе ассоциации этих двух болезней лежит иммунологический дефект.

По мнению П. Н. Смирнова [9–12], иммунодефицит у крупного рогатого скота, больного лейкозом, может являться вторичным, на фоне которого велика вероятность наследования туберкулёзной инфекции. Однако, как замечал автор, нельзя исключать и другой вариант сопряжения лейкоза и туберкулёза, когда на фоне иммунологического дефекта туберкулёзной природы может развиваться инфекция BLV, отягчающая иммунологический дефект и приводящая к генерализации лейкозного процесса.

Цель исследований – изучить формирование иммунитета у крупного рогатого скота при лейкозно-туберкулёзной инфекции в экспериментальном варианте.

Объектом изучения иммунного ответа при ассоциативном течении инфекции BLV и туберкулёза служили телята в возрасте 4–6 месяцев, содержащиеся в условиях экспериментальной базы ИЭВСиД СО РАСХН.

Животных черно-пёстрой породы местной селекции подбирали клинически здоровыми из длительно благополучного по туберкулёзу и лейкозу крупного рогатого скота хозяйства Новосибирской области. Из них сформировали 5 подопытных групп, по 5–6 животных в каждой:

- экспериментально инфицированные BLV;
- экспериментально инфицированные культурой *M. bovis*;
- экспериментально инфицированные BLV, а затем через 45 дней культурой *M. bovis*;
- экспериментально инфицированные культурой *M. bovis*, а через 45 дней BLV;
- интактный контроль.

Материалом для экспериментального инфицирования телят BLV служила нативная кровь больной лейкозом коровы (в стадии клинического развития болезни), введенная в дозе 5 мл внутрибрюшинно однократно.

Для заражения телят туберкулёзом использовали оттитрованную дозу вирулентного штамма *M. bovis* (шт. № 14 ВНИИБТЖ), выращенного на среде Левенштейна-Йенсена.

Диагностические исследования телят на инфекцию BLV осуществляли в соответствии с «Методическими указаниями по диагностике лейкоза крупного рогатого скота». Для постановки реакции диффузионной преципитации (РДП) в геле агара использовали тест-систему, изготовленную Курской биофабрикой.

При проведении опытов телят исследовали внутрикожной туберкулиновой пробой (ППД-туберкулин для млекопитающих).

Для оценки естественной резистентности животных подобрали панель наиболее информативных тестов, включающую:

- оценку фагоцитарной активности нейтрофилов;
- определение напряженности бактерицидной активности сыворотки крови;
- оценку уровня лизоцимной активности сыворотки крови;
- определение пролиферативной активности лимфоцитов *in vitro*.

Количественные показатели по всем перечисленным тестам определяли по методикам П. Н. Смирнова с соавт. [12].

По завершении опыта все инфицированные *M. bovis* животные были комиссионно убиты. В биоматериале всех зараженных животных туберкулёзная инфекция была подтверждена бактериологически.

Исследования проводили в динамике – в 85, 133, 184, 237 и 307 дней. Стандартная обработка вариационных рядов включала подсчёт значений средних величин (M) и ошибок средних ($\pm m$) с использованием стандартных компьютерных программ.

Анализ динамики показателей фагоцитарной активности лимфоцитов периферической крови телят *in vitro* (рис. 1) позволил нам выявить следующие особенности.

1. В случае заражения животных BLV наблюдается незначительная стимуляция неспецифической пролиферативной активности лимфоцитов с резким её повышением к 307-му дню наблюдения. Специфический ответ на Con A (Т-клеточный митоген) и PWM (В-клеточный митоген), наоборот, постепенно снижался и к 307-му дню наблюдения достоверно был ниже, чем в контрольной группе, что указывало на снижение функциональной активности лимфоцитов. Специфический ответ на ППД-туберкулин для млекопитающих не отличался от такового животных контрольной (интактной) группы на протяжении всего периода наблюдений.

2. При заражении животных *M. bovis* (в моноварианте), как и в предыдущем случае, отмечали повышение неспецифической пролиферативной активности лимфоцитов и снижение их ответа на Т- и В-клеточные митогены. Специфический ответ на ППД-туберкулин для млекопитающих регистрировали к исходу 7-го месяца с последующим его исчезновением.

3. В группе «BLV+ *M. bovis*» специфический ответ на ППД-туберкулин регистрировали к 4-му месяцу, а к 6-му он достигал максимума, существенно превышая этот показатель в группе животных с туберкулёзной моноинфекцией, а затем постепенно снижался. Реакция на Т- и В-клеточные митогены также была повышена в периоды наибольшего специфического ответа на ППД-туберкулин, что подтверждает иммуностимулирующий эффект BLV в сравнении с моноинфекцией туберкулёза.

4. В случае первоначального заражения туберкулёзом и последующего инфицирования BLV специфический ответ на ППД-туберкулин регистрировали также к 4-му месяцу, который сохранялся на протяжении всего последующего периода наблюдения, в отличие от животных двух предыдущих групп.

Итак, в случае сочетанного течения лейкозной и туберкулёзной инфекций имела значение последовательность инфицирования. Наиболее интенсивный специфический ответ на ППД-туберкулин и митогены Con A и PWM наблюдали в случае заражения телят в сочетании «BLV+ *M. bovis*», но к 10-му месяцу имел место обратный эффект, хотя уровень спонтанной пролиферации лимфоцитов был, наоборот, в этот период наивысшим. Последнее указывало, вероятно, на развитие иммунологического дефекта, вызванного BLV (усиление пролиферации лимфоцитов при одновременном снижении их реактивных способностей).

При обратной последовательности инфицирования (*M. bovis*+BLV) формирование иммунного ответа на заражение телят *M. bovis* проходило в те же сроки, но более растянуто во времени, хотя и в этом случае имел место иммунологический дефект.

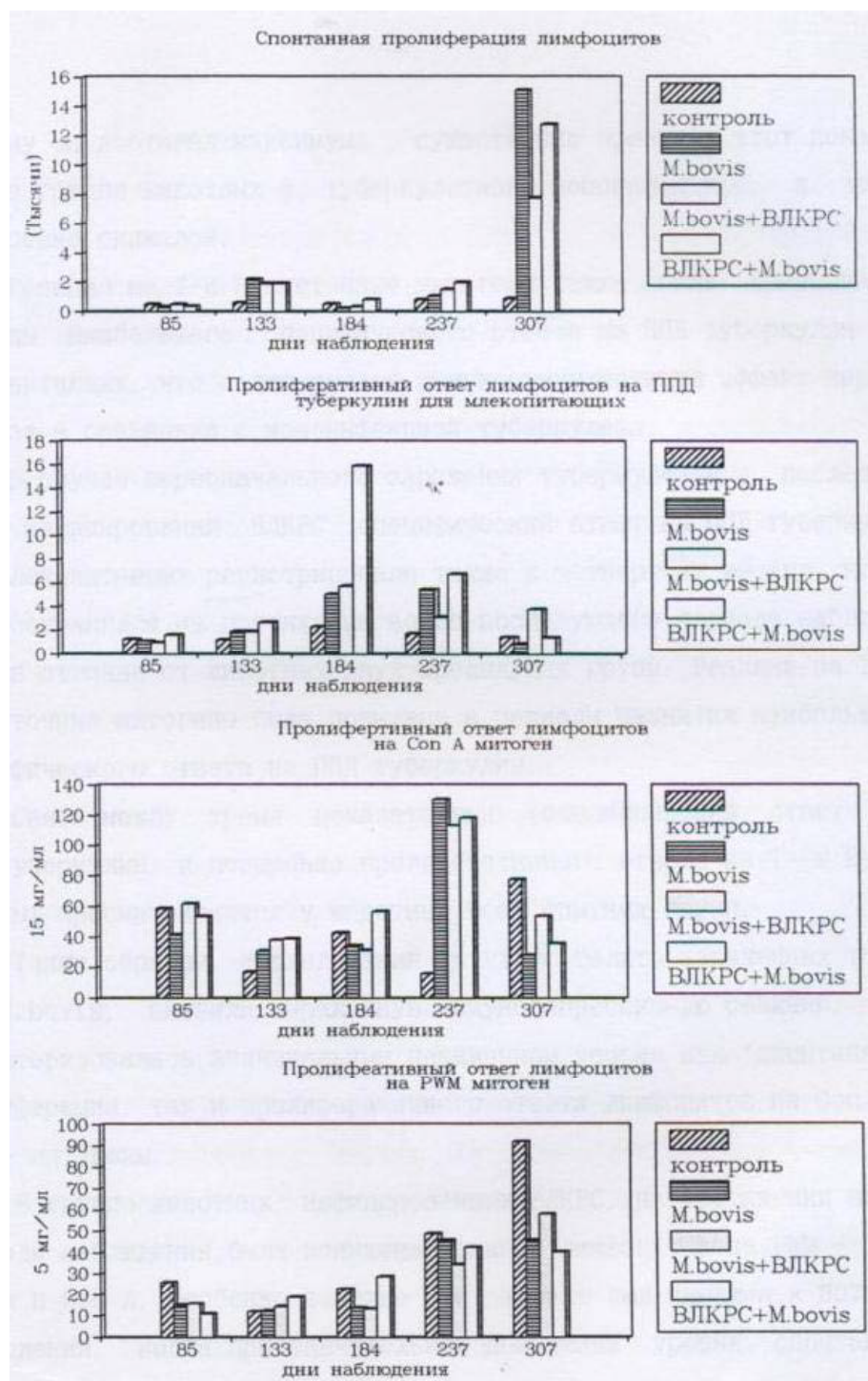


Рис. 1. Динамика пролиферативного ответа лимфоцитов на различные митогены (in vitro)

Результаты оценки состояния естественной резистентности телят по уровню бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови (рис. 2) выявили тенденцию изменений, коррелирующих с изменениями показателей функциональной активности лимфоцитов in vitro. В частности, было установлено, что при ассоциированном течении инфекций (BLV и *M. bovis*), особенно в случае инфекции BLV, наложившейся на *M. bovis*, у телят развивался наиболее выраженный иммунологический дефект, характеризующийся достоверным снижением лизоцимных и бактерицидных свойств сыворотки крови.

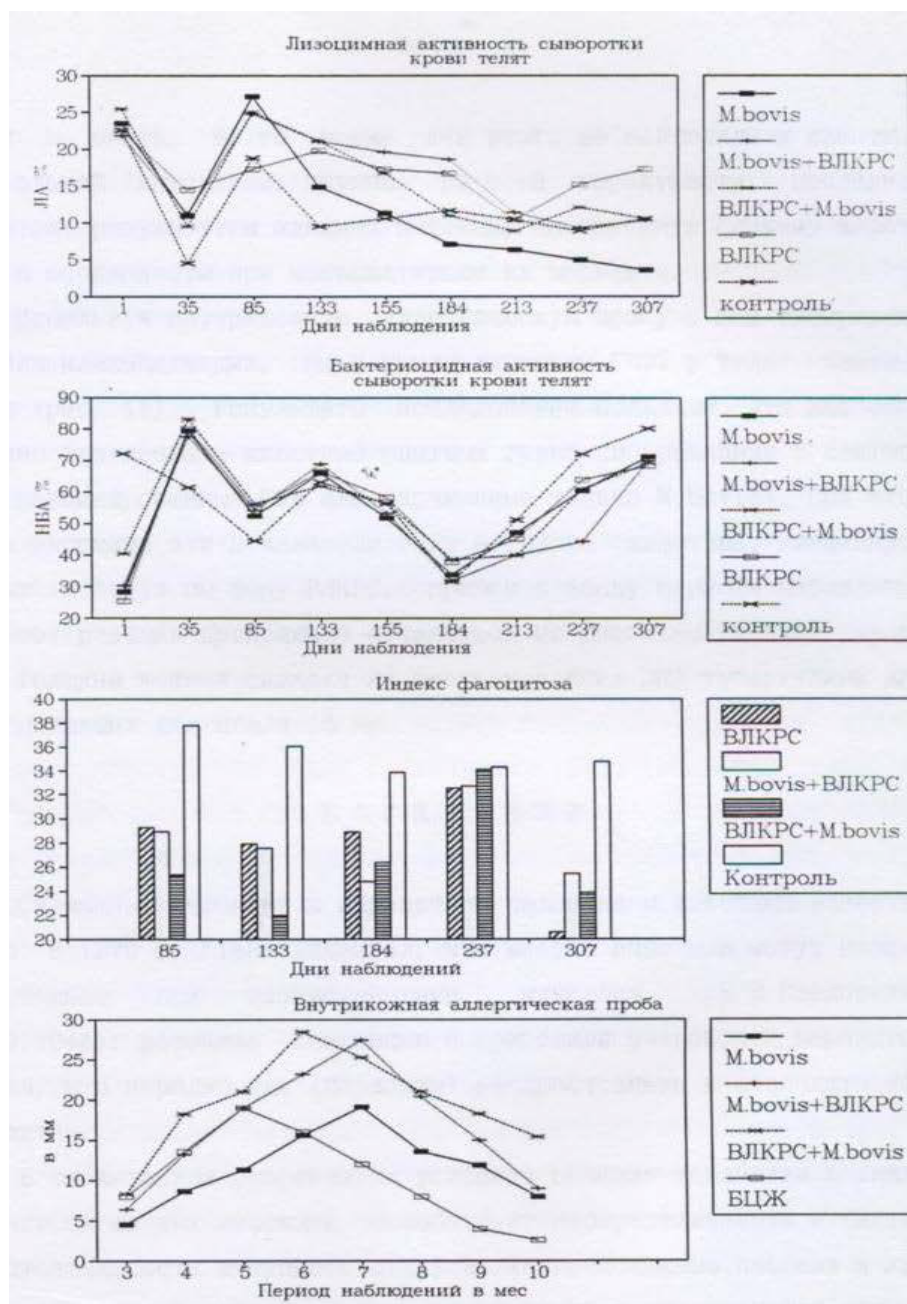


Рис. 2. Динамика показателей естественной резистентности сыворотки крови телят и показателей аллергической реакции этих же животных на ППД-туберкулин для млекопитающих

У телят опытных групп показатели фагоцитоза также были ниже, чем у животных интактной группы.

Используя внутрикожную аллергическую пробу с ППД-туберкулином для млекопитающих, мы изучили динамику ГЧЗТ у телят опытных групп (см. рис. 2). Исследования показали, что наиболее активно реагировали животные опытных групп, зараженные *M. bovis*. При этом более высокими данные показатели были в группе животных, инфицированных микобактериями туберкулёза по фону BLV. Причем к концу наблюдений (10 месяцев) реакция продолжала оставаться на довольно высоком уровне. Толщина кожной складки на месте введения ППД-туберкулина достигала 15 мм.

Смешанные инфекции и паразитозы человека и животных известны давно [13]. В 1970 г. Klebs указывал, что многие инфекции могут возникать только при взаимодействии микроорга-

низмов. В 1934–1944 гг. Е. Н. Павловский, развивая концепцию о природной очаговости паразитов, указывал, что они (паразиты) нередко распространены в ассоциативном варианте.

В современных условиях ведения животноводства, когда на ограниченной территории зачастую концентрируется значительное поголовье, возникновению смешанных инфекций способствует частая несостоятельность иммунного статуса животных, многочисленные пассажи и кумуляция возбудителей, сопровождающиеся увеличением инфицирующей дозы и повышением вирулентности инфекционных агентов. Следует учитывать и ятрогенный фактор – широкое применение вакцин из аттенуированных штаммов, которые, безусловно, участвуют в ассоциациях, формируя смешанные паразитозы, выступающие в качестве иммунодепрессантов или иммуностимуляторов.

Обосновывая цель и задачи исследовательской работы, мы исходили, прежде всего, из нескольких основополагающих научно-практических аспектов лейкоза и туберкулёза жвачных. Это сложность борьбы с хроническими инфекциями, напряженность эпизоотической ситуации по ним и слабая изученность механизма сочетанного течения лейкозно-туберкулёзной инфекции у крупного рогатого скота.

Течение патологического процесса при ассоциативных инфекциях, как показали наши исследования, имеет свои особенности. Это связано, прежде всего, с характером взаимодействия его сочленов.

Совокупность патогенов при смешанной инфекции принято считать более опасной. Именно сочлены ассоцианта могут воздействовать на иммунную систему, обуславливая иммунодефицит. Как отмечал Р. В. Петров [6], первой системой, реагирующей на негативное влияние паразитов на живой организм, является иммунная система. И суть здесь состоит в том, что смешанные инфекции характеризуются не только взаимодействием партнёров того или иного ассоцианта, но и реакцией организма-хозяина, который дифференцированно отвечает на каждое чужеродное воздействие в отдельности и на ассоциант в целом. Следовательно, мы вправе допускать при ассоциативных инфекциях как активацию, так и депрессию иммунной системы, что и было продемонстрировано результатами наших исследований.

Таким образом, экспериментальное заражение телят *M. bovis* (в моноварианте), так же как и инфицирование их BLV, сопровождается угнетением иммунной системы животных: снижением лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови, понижением фагоцитарной активности микрофагов; снижением пролиферативной активности лимфоцитов на разные митогены – Con A, PWM и ППД-туберкулин для млекопитающих.

В случае экспериментального заражения животных BLV и *M. bovis* имеет значение последовательность инфицирования. Так, наиболее выраженный иммунологический дефект развивается при наложении инфекции BLV на *M. bovis* и характеризуется снижением показателей как клеточного, так и гуморального звеньев ИКС. Следовательно, в случае бинарной инфекции происходит взаимное усиление патологического процесса.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Rossi L., Dokoupi L. S. Piciny noveho vzplanuti tuberkulozy sktu v ozdravenych chovech // Veter. med. – 1969. – R. 14. – S. 441–448.
2. Бернет Ф. Клеточная иммунология. – М.: Мир, 1971. – 542 с.
3. Грунтенко Е. В. Иммуитет «за» и «против». – М.: Знание, 1982. – С. 163–165.
4. Белик В. И. Фагоцитарная активность лейкоцитов крови у крупного рогатого скота в зависимости от состояния окислительно-восстановительных процессов// Тез. докл. Всесоюз. конф. Самарканд, 9–11 окт. 1984 г. – Ташкент, 1984. – С. 37.

5. *Авдютичева О. Е.* Иммунорегуляторные Т-лимфоциты и естественные антителозависимые киллеры у больных хроническим лимфолейкозом // Там же. – С. 39–40.
6. *Петров Р. В.* Иммунная система как наследие древних акул // Аргументы недели. – 2016. – № 38. – С. 3–4.
7. *Дейчман Г. И.* Роль естественной резистентности в реакции организма на возникновение, рост и метастазирование опухолей // Итоги науки и техники. ВИНТИ. Сер. Онкология. – 1984. – Т. 13. – С. 46–97.
8. *Смирнов П. Н.* Динамика иммунного ответа при ассоциированной лейкозно-туберкулезной инфекции // Эпизоотический и инфекционный процессы (теоретические и практические аспекты): сб. науч. тр. / РАСХН. Сиб. отделение, ИЭВСиДВ. – Новосибирск, 1992. – С. 121–125.
9. *Комплекс* противоэпизоотических мероприятий (при туберкулезе, бруцеллезе, и лейкозе КРС) и повышение сохранности телят и поросят в Красноярском крае: рекомендации / П. Н. Смирнов, А. Т. Анишин, А. С. Донченко [и др.]. – Красноярск, 1997. – 26 с.
10. *Смирнов П. Н.* Болезнь века: Лейкоз крупного рогатого скота: монография. – Новосибирск, 2007. – 301 с.
11. *Ассоциативные* инфекции и паразитозы сельскохозяйственных животных: проблемы и их решения / П. Н. Смирнов, П. Н. Евдокимов, В. Н. Украинаева [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: материалы Сиб. вет. конф. / НГАУ. – Новосибирск, 2009. – С. 126–129.
12. *Панель* наиболее информативных тестов для оценки резистентности животных / П. Н. Смирнов, Н. В. Ефанова, В. В. Храмцов [и др.]; Новосиб. гос. аграр. ун-т [и др.]. – Новосибирск, 2007. – 40 с.
13. *Циммер К.* Паразиты: тайный мир. – М., 2011. – 280 с.