

РОС-АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛЕЙКОГРАММЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПРЕДИКТОРОВ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ТЕЛЯТ

Е. А. Калаева¹, В. Н. Калаев¹, А. Е. Черницкий², М. Алхамед¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования "Воронежский государственный университет"

² Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский
ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Российской
академии сельскохозяйственных наук

Поступила в редакцию 15.06.2017 г.

Аннотация. Проанализированы показатели лейкограммы новорожденных телят в группах животных с ранней (медиана - 5 суток после рождения), поздней (медиана - 13 суток после рождения) манифестацией бронхита и пневмонией (медиана манифестации бронхита - 3 суток после рождения). "Ранний" бронхит с большей вероятностью, чем "поздний", осложнялся пневмонией. Идентификатором "раннего" бронхита, согласно данным ROC-анализа, является появление в образцах крови моноцитов (более 0.0 %). Диагностическая ценность предиктора оценивается как средняя (AUC = 0.614); чувствительность - высокая (100 %), специфичность - достаточно низкая (22.73 %). Соотношение чувствительности и специфичности позволяет рекомендовать использование теста на ранних этапах диагностического процесса, что дает возможность быстро сформировать группу риска по вероятности развития осложненного течения респираторного заболевания. Дискриминатором пневмонии является низкое относительное содержание лимфоцитов (менее 45.0 %). Предиктор характеризуется хорошей диагностической ценностью (AUC = 0.760) и высокой специфичностью (95.45 %) при достаточной чувствительности (71.43 %). Данный тест позволяет дифференцировать пневмонию от других заболеваний и своевременно провести профилактические мероприятия или назначить адекватное лечение.

Ключевые слова: бронхит, гематологические показатели, диагностическая ценность новорожденные телята, пневмония, предиктор, ROC-анализ, специфичность, чувствительность.

Abstract. Leucogram parameters of newborn calves in groups of animals with early manifestation of bronchitis (median - 5 days after birth), late manifestation of bronchitis (median - 13 days after birth), pneumonia (median manifestation of bronchitis - 3 days after birth) have been analyzed. "Early" bronchitis was more likely than "late" bronchitis complicated by pneumonia. The identifier of "early" bronchitis, according to ROC-analysis data is the appearance of monocytes (0.0 %) in the analyzed blood samples. The diagnostic value of the indicator is estimated as average (AUC = 0.614); the sensitivity is high (100 %), the specificity is rather low (22.73 %). The ratio of sensitivity and specificity makes it possible to recommend the use of the test in the early stages of the diagnostic process, which makes it possible to quickly form a risk group for the probability of developing a complicated course of respiratory diseases. The discriminator of pneumonia is low relative lymphocyte count (less than 45.0 %). The predictor is characterized by good diagnostic value (AUC = 0.760); high specificity (95.45 %) and sufficient sensitivity (71.43 %). This test allows differentiating pneumonia from other diseases and carrying out preventive measures or prescribing appropriate treatment.

Keywords: bronchitis, hematological indices, diagnostic value, newborn calves, pneumonia, predictor, ROC-analysis, specificity, sensitivity.

Актуальной проблемой ветеринарии является борьба с неонатальной патологией животных, приводящей к их гибели или снижению скорости

роста. Новорождённые телята характеризуются незрелостью строения и функционирования систем организма [1]. Защитные реакции у них слабо развиты и несовершенны: кожные покровы и слизистые оболочки относительно легко про-

© Калаева Е. А., Калаев В. Н., Черницкий А. Е., Алхамед М., 2017

нищаемы, воспалительная реакция в первые дни жизни не развивается [2 - 4], иммунная система до 45-дневного возраста не вырабатывает антитела на введенный антиген [5].

Наиболее распространенными среди молодняка КРС являются респираторные и желудочно-кишечные болезни [6, 7]. Респираторные заболевания занимают ведущее место среди всех патологий: до 80 - 100 % телят в неонатальном периоде подвержены болезням органов дыхания [8, 9].

Раннее выявление инфекционного процесса или осложнения основного заболевания крайне важно для выбора подходов к лечению и назначению фармакологических средств. Любые критерии, дающие возможность объективно подтвердить начало воспалительного процесса, крайне ценны, поскольку позволяют сократить сроки лечения, применять низкодозную антибиотикотерапию, снизить экономические затраты. Такая диагностика имеет первоочередное значение при работе с новорожденными животными, поскольку они находятся под постоянной угрозой развития бактериальных и вирусных заболеваний.

Кровь является компонентом иммунной системы, в котором проявляется суммарный эффект изменения ее активности в процессе борьбы с чужеродным. Именно поэтому кровь с ее клеточными и гуморальными компонентами, легко доступная для анализа, является незаменимым источником информации для оценки эффективности борьбы организма с чужеродным при самых разнообразных заболеваниях [10].

Анализ лейкограмм периферической крови принципиально улучшает возможности диагностики, прогнозирования течения и контроля эффективности лечения широкого круга заболеваний. Имеется множество различных методов и их модификаций для определения клеточных и гуморальных компонентов иммунной системы, но лишь немногие из них подходят для практического применения. Поэтому с целью выявления диагностически ценных предикторов бронхо-легочной патологии нами были исследованы лейкограммы новорожденных телят, у которых в течение первого месяца жизни в различные сроки развивались бронхит или пневмония.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Было обследовано 29 новорожденных телят, у 22 особей выявлено раннее начало бронхита (до 10 суток после рождения), у 7 - позднее (более 10

суток), у 7 животных бронхит впоследствии осложнился пневмонией.

Лейкограмму рассчитывали стандартным методом после окраски мазков крови по Романовскому.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в пакетах программ Stadia 7.0 Professional и MedCalc 17.5.3. Поскольку распределение большей части показателей не подчинялось нормальному закону, медианные значения сравнивали с использованием непараметрических критериев Вилкоксона и Ван дер Вардена. Данные представлены в формате "средняя арифметическая \pm стандартное отклонение", также приведены медианные значения показателей. Нулевая гипотеза отвергалась при $P < 0.05$.

Для выявления предикторов "раннего" или "позднего" бронхита и пневмонии использовали ROC-анализ по методу DeLong et al. [10]. Анализировали следующие параметры: AUC (area under curve) - площадь под кривой (характеризует диагностическую ценность показателя (0.9-1.0 - отличная; 0.8-0.9 - очень хорошая; 0.7-0.8 - хорошая, 0.6-0.7 - средняя, 0.6 и меньше - неудовлетворительная)), чувствительность и специфичность теста, критические значения ("cut-off point") показателей.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами было установлено, что "ранний" бронхит манифестировал на 2 - 9 сутки после рождения, в среднем на 4.9 ± 2.0 сут. ($Me = 5$ сут.), "поздний" - на 10 - 30 сутки после рождения, в среднем на 15.8 ± 7.9 сут. ($Me = 13$ сут.) (различия статистически достоверны, $P < 0.01$). Бронхит, осложнившийся пневмонией, проявлялся на 2 - 10 сутки после рождения, в среднем на 5.0 ± 3.3 сут. ($Me = 3$ сут.). Дальнейший анализ был направлен на выявление предикторов "раннего" бронхита и пневмонии.

Исследование лейкограммы новорожденных телят позволило выявить статистически достоверные отличия между группами животных с разными сроками манифестации бронхита только в относительном содержании эозинофилов (табл. 1). Так, у животных с "ранним" бронхитом содержание эозинофилов в крови колебалось в пределах от 0.0 до 3.0 % (в среднем 0.7 ± 0.8 %, $Me = 0.0$ %). У телят с поздним проявлением симптомов бронхита эозинофилы обнаруживались в количестве 0.0 - 1.0 % (0.2 ± 0.4 %, $Me = 0.0$ %).

Несмотря на то, что были обнаружены различия в содержании эозинофилов, ROC-анализ

Лейкограмма телят с "ранним" и "поздним" бронхитом и пневмонией

Показатель	"Ранний" бронхит			"Поздний" бронхит			Пневмония		
	Диапазон значений	$x \pm s_x$	Ме-диана	Диапазон значений	$x \pm s_x$	Ме-диана	Диапазон значений	$x \pm s_x$	Ме-диана
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	6.4 - 16.5	11.1 ± 3.2	10.0	5.8 - 20	13.8 ± 5.9	15.9	6.5 - 14.5	10.8 ± 2.9	10.8
Сегментоядерные нейтрофилы, %	18.0 - 57.0	33.1 ± 9.013	31.0	28.0 - 52.0	36.5 ± 8.5	34.0	26.0 - 54.0	39.7 ± 10.7	38.0
Палочкоядерные нейтрофилы, %	4.0 - 20.0	11.5 ± 4.5	12.0	8.0 - 24.0	14.0 ± 5.6	12.5	4.0 - 24.0	15.1 ± 6.8	17.0*
Лимфоциты, %	36.0 - 75.0	54.6 ± 9.5	56.0	24.0 - 61.0	49.3 ± 13.5	51.5	24.0 - 61.0	44.4 ± 13.0	43.0*
Моноциты, %	0.0 - 1.0	0.2 ± 0.4	0.0	0.0	0.0 ± 0.0	0.0	0.0 - 1.0	0.1 ± 0.4	0.0
Эозинофилы, %	0.0 - 3.0	0.7 ± 0.8	0.0*	0.0 - 1.0	0.2 ± 0.4	0.0	0.0 - 2.0	0.6 ± 1.0	0.0

позволил предложить в качестве идентификатора "раннего" бронхита появление в анализируемых образцах крови моноцитов (более 0,0 %). Это связано с тем, что эозинофилы появляются в крови не только как реакция на воспаление, но и как ответ на паразитарную инвазию. Появление моноцитов - более специфичный маркер развития бронхолегочной патологии, вызванной бактериальными или вирусными агентами. Повышение их содержания в периферической крови указывает на переход воспаления во вторую фазу (сосудистая реакция) и является прогностически благоприятным признаком. Диагностическая ценность показателя оценивается как средняя ($AUC = 0.614$); чувствительность - высокая (100.0 %), специфичность теста (22.73 %) - достаточно низкая (рис. 1). Данное соотношение чувствительности и специфичности позволяет рекомендовать использование теста на ранних этапах диагностического процесса. Вероятность ложноотрицательных результатов в силу высокой чувствительности предиктора минимальна, что дает возможность сразу после проведения анализа сформировать группу риска по вероятности развития осложненного течения респираторного заболевания, хотя и не позволяет дифференцировать "ранний" бронхит от других патологий.

У телят с бронхитом, впоследствии осложнившимся пневмонией, было отмечено снижение относительного числа лимфоцитов (44.4 ± 13.0 %, $Me = 43.0$ % против 55.2 ± 8.4 %, $Me = 53.5$ %, соответственно) и повышение содержания палочкоядерных нейтрофильных гранулоцитов (15.1 ± 6.8 %, $Me = 17.0$ % против 11.3 ± 3.8 %, $Me = 12.0$ %, соответственно). Известно, что снижение содержания лимфоцитов, наблюдаемое в ходе воспалительного процесса, является

прогностически неблагоприятным признаком и обычно свидетельствует о предстоящем осложнении основного заболевания [11]. Нейтрофилии со сдвигом ядерной формулы влево (с увеличением количества палочкоядерных форм) являются доминирующими при большинстве воспалительных заболеваний, поэтому не могут служить достоверным предиктором пневмонии.



Рис. 1. ROC-кривая предиктора "раннего" бронхита - относительного содержания моноцитов

В качестве дискриминатора пневмонии оптимальным показателем является снижение относительного содержания лимфоцитов (менее 45.0 %) (рис. 2). Как указывалось выше, снижение содержания лимфоцитов (в основном за счет субпопуляции Т-клеток) свидетельствует о предстоящем

осложнении течения воспалительного процесса, клинические признаки которого проявятся через 1-2 суток.

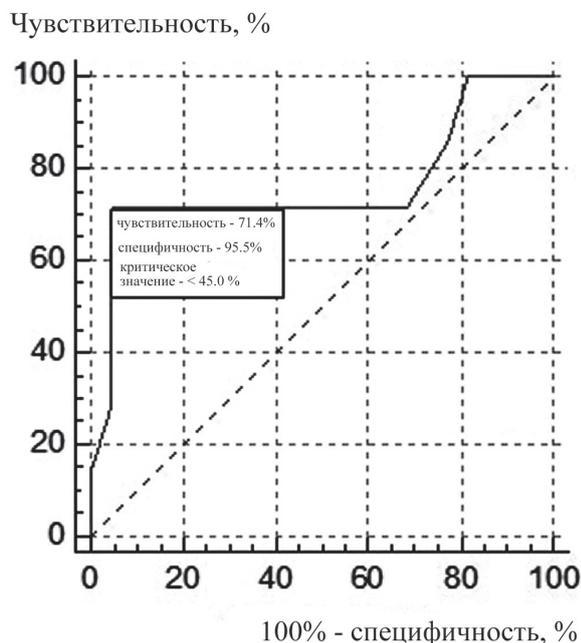


Рис. 2. ROC-кривая предиктора пневмонии - относительного содержания лимфоцитов

Указанный предиктор характеризуется хорошей диагностической ценностью ($AUC = 0.760$) и высокой специфичностью (95.45 %) при достаточной чувствительности (71.43 %). Данный тест позволяет дифференцировать пневмонию от других заболеваний и своевременно провести профилактические мероприятия или назначить адекватное лечение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Животных с ранними сроками манифестации бронхо-легочной патологии следует относить к группе риска по вероятности развития пневмонии.

Идентификатором "раннего" бронхита у телят является появление в анализируемых образцах крови моноцитов (более 0,0 %). Высокая чувствительность и низкая специфичность данного предиктора допускают гипердиагностику, но ввиду возможных осложнений следует максимально внимательно относиться к включению животных в группу риска.

Дискриминатором пневмонии у телят является низкое относительное содержание лимфоцитов (менее 45,0 %). Высокая специфичность показателя позволяет четко диагностировать пневмонию и назначить антибиотики, направленно воздействующие именно на возбудителей бронхо-легочной

инфекции. Профилактика и раннее начало адекватно подобранной терапии существенно улучшают прогноз, снижают затраты на лечение и содержание животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Малашко В.В. Метаболизм и структурно-функциональные изменения в организме животных и птицы при использовании катозала® / В.В. Малашко, А.Н. Кузнецов, Д.В. Малашко. — Гродно: ГГАУ, 2010. — 224 с.
2. Husband A.J. Perspectives in mucosal immunity: a ruminant model / A.J. Husband // *Vet. Immunol.* — 1988. — P. 357-365.
3. Minor P.D. The molecular biology of poliovaccines / P.D. Minor // *J. Gen. Virol.* — 1992. — Vol. 73. — P. 3065-3077.
4. Valtanen S. Poliovirus – Specific Intestinal Antibody Responses Coincide with Decline of Poliovirus Excretion / I.S. Valtanen, M. Roivainen, M. Pirainen // *J. Infect. Dis.* — 2000. — Vol. 182. — P. 1-5.
5. Физиологические особенности новорожденных телят. — URL: <http://www.sciteclibrary.ru/texts/rus/stat/st334/05.htm> (дата обращения 06.06.17).
6. Лисицын В.В. Заболевание молодняка КРС вирусной этиологии / В.В. Лисицын // *Ветеринария сельскохозяйственных животных.* — 2013. — № 3. — С. 6-12.
7. Самохин, В.Т. Стратегия борьбы с заболеваниями новорожденного молодняка / В.Т. Самохин // *Профилактика и лечение болезней молодняка сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр.* — Воронеж, 1991. — С. 78-79.
8. Мосейчук В.В. Изменения состава периферической крови телят в зависимости от тяжести течения инфекционного ринотрахеита / В.В. Мосейчук, А.М. Ермаков // *Ветеринария Кубани.* - 2008. - № 6. - С. 22-24.
9. Шабунин С.В. Респираторные болезни телят: современный взгляд на проблему / С.В. Шабунин, А.Г. Шахов, А.Е. Черницкий, А.И. Золотарев, М.И. Рецкий // *Ветеринария.* — 2015. — № 5. - С. 3-13.
10. DeLong E.R. Comparing the areas under two or more correlated receiver operating characteristic curves: a nonparametric approach / E.R. DeLong, D.M. DeLong, D.L. Clarke-Pearson // *Biometrics.* - 1988. - V. 44. - P. 837-845.
11. Иммунология в клинической практике / Под ред. К.А. Лебедева. - 1-й том издания медицинской электронной библиотеки, 1996.

Калаева Е. А., Калаев В. Н., Черницкий А. Е., Алхамед М.

*Воронежский государственный университет
Калаева Е. А., кандидат биологических наук,
доцент кафедры биофизики и биотехнологии
Тел.: +7 (473) 220-85-86
E-mail: kalaevae@gmail.com*

*Калаев В. Н., доктор биологических наук, профес-
сор кафедры генетики, цитологии и биоинженерии
Тел.: +7 (473) 220-88-76
E-mail: dr_huixs@mail.ru*

*Алхамед М., аспирант кафедры генетики, ци-
тологии и биоинженерии
Тел.: +7 (473) 220-88-76
E-mail: m.a.hamed84@yandex.ru*

*Государственное научное учреждение Все-
российский научно-исследовательский ветери-
нарный институт патологии, фармакологии
и терапии Российской академии сельскохозяй-
ственных наук*

*Черницкий А.Е., кандидат биологических наук,
ст. научн. сотрудник сектора диагностического
мониторинга
Тел.: +7 (473) 253-92-81
E-mail: cherae@mail.ru*

*Voronezh State University
Kalaeva E. A., Ph.D., assistant professor of the
Department of biophysics and biotechnology
Ph.: +7 (473) 220-85-86
E-mail: kalaevae@gmail.com*

*Kalaev V. N., doctor of biology, professor of of
the Genetic, cytology and bioengineering department
Ph.: +7 (473) 220-88-76
E-mail: dr_huixs@mail.ru*

*Alhamed M., post-graduate student of the Genetic,
Cytology and Bioengineering Department
Тел.: +7 (473) 220-88-76
E-mail: m.a.hamed84@yandex.ru*

*State Scientific Institution All-Russian Veterinary
Research Institute of Pathology, Pharmacology and
Therapy of the Russian Academy of Agricultural
Sciences*

*Chernitskiy A. E., Ph.D., Senior Research
Scientist of the Diagnostic Monitoring Sector
Ph.: +7 (473) 253-92-81
E-mail: cherae@mail.ru*