

УДК 619:636.2:591.5:616.155.2
DOI 10.37000/abbsl.2026.120.16

Роман Милостивий,

кандидат ветеринарних наук, доцент

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

м. Дніпро, Україна

ORCID ID: 0000-0002-4450-8813

e-mail: mylostyvyi.r.v@dsau.dp.ua

ІНТЕГРАЛЬНІ ЛЕЙКОЦИТАРНІ ІНДЕКСИ ЯК ДОСТУПНІ МАРКЕРИ ІМУННОГО СТАТУСУ КОРІВ ЗА УМОВ ТЕПЛОВОГО СТРЕСУ

Анотація

У роботі досліджено інформативність інтегральних лейкоцитарних індексів (ЛІ) як доступних маркерів імунного статусу корів голштинської породи за умов хронічного теплового стресу. Актуальність дослідження зумовлена зростанням частоти хвиль спеки та необхідністю впровадження простих і економічно доцільних методів контролю функціонального стану високопродуктивних тварин у виробничих умовах. Відомо, що тривале теплове навантаження супроводжується пригніченням природної резистентності, порушенням клітинної та гуморальної ланок імунітету, що потребує своєчасної діагностики. Дослідження проведено на коровах голштинської породи другої–третьої лактації, з яких випадковим чином сформовано дві групи-аналогів по 10 голів: дослідну, яку утримували в літній період за умов теплового навантаження, та контрольну – в осінній термонеутральний період. Рівень теплового стресу оцінювали за температурно-вологісним індексом (ТНІ), який у дослідний період становив 77,9–78,6, тоді як у контролі залишався нижчим за 68. У крові визначали імуноглобуліни класів А, G, M, циркулюючі імунні комплекси (ЦІК), лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК), бактерицидну активність сироватки крові (БАСК), загальний і диференціальний вміст лейкоцитів, а також ЛІ. Статистичну обробку результатів проводили із застосуванням критерію Манна–Уїтні та кореляції Спірмена. Установлено, що хронічний тепловий стрес супроводжувався зниженням ЛАСК на 48 % ($p < 0,05$), підвищенням рівня ЦІК на 36 %, збільшенням частки паличкоядерних нейтрофілів у 2,2 раза ($p < 0,01$), зменшенням кількості лімфоцитів на 23,8 % ($p < 0,05$) і моноцитів на 42,1 % ($p < 0,05$). Найбільш інформативними виявилися індекс ядерного зсуву (ІЯЗ), нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення (НЛС), індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛ) та лімфоцитарно-еозинофільне співвідношення (ЛЕС). Встановлено сильний прямий зв'язок між НЛС та рівнем IgA ($r = 0,873$; $p < 0,05$). ЛІ, розраховані на основі одного розгорнутого аналізу крові, є у 4,5 раза дешевшими за окреме визначення гуморальних імунологічних показників. Отримані дані підтверджують доцільність використання ЛІ як економічно доступного та практично зручного інструменту первинного моніторингу імунного статусу корів за теплового стресу.

Ключові слова: молочна худоба; тепловий стрес; імунний статус; лейкоцитарні індекси; природна резистентність.

Вступ. За останні десятиліття тепловий стрес став одним із провідних факторів, що обмежують ефективність сучасного молочного скотарства. Підвищення температури повітря, збільшення частоти хвиль спеки та поєднання високої температури з підвищеною вологістю негативно впливають на

фізіологічний стан, продуктивність і добробут тварин [1–3]. Особливо чутливими до дії теплового навантаження є високопродуктивні корови голштинської породи, для яких перегрівання супроводжується зниженням споживання корму, порушенням енергетичного обміну, ослабленням імунного захисту та зменшенням надоїв [4–6].

Відомо, що тривалий вплив високих значень температурно-вологісного індексу (ТНІ) супроводжується розвитком системного стресу, оксидативних процесів, перерозподілом клітин крові та змінами гуморальної резистентності [7–9]. За таких умов підвищується ризик маститу, метаболічних порушень і зниження відтворної здатності тварин [10–11]. Тому своєчасне виявлення негативного впливу теплового стресу є важливою умовою збереження здоров'я та продуктивного довголіття корів [12].

Одним із перспективних напрямів контролю функціонального стану організму є використання біомаркерів крові [13]. Хоча сучасні лабораторні методи дозволяють визначати широкий спектр імунологічних показників, їх застосування у виробничих умовах часто обмежується високою вартістю, потребою у спеціалізованому обладнанні та значними витратами часу. У зв'язку з цим особливого значення набуває пошук простих, швидких та економічно доступних індикаторів, придатних для масового моніторингу добробуту тварин на рівні стада.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Тепловий стрес у сучасному молочному скотарстві розглядається як один із найбільш вагомих чинників, що обмежують продуктивність, погіршують здоров'я тварин та знижують економічну ефективність виробництва молока. Зростання середньорічної температури повітря, збільшення частоти хвиль спеки та поєднання високої температури з підвищеною вологістю створюють умови, за яких механізми терморегуляції корів працюють із надмірним навантаженням. За таких умов у тварин зменшується споживання сухої речовини раціону, порушується енергетичний баланс, знижуються надої, погіршуються показники відтворення та зростає частота захворювань [14].

Особливо чутливими до дії високих температур є високопродуктивні корови голштинської породи, що пов'язано з інтенсивним обміном речовин, високою теплопродукцією та значним функціональним навантаженням у період лактації. Показано, що саме у голштинів за теплового стресу швидше розвиваються порушення гомеостазу, зміни фізіологічних реакцій та зниження продуктивності. Водночас між породами існують суттєві відмінності у термостійкості, що підтверджує важливість породного підходу до оцінки адаптаційних реакцій [15–16].

Відомо, що однією з перших систем організму, яка реагує на теплове навантаження, є система крові. Зміни гематологічних показників відображають ступінь напруження адаптаційних механізмів та можуть бути інформативними ранніми маркерами порушення фізіологічного стану. За даними різних авторів, за умов теплового стресу у корів реєструють коливання кількості еритроцитів,

рівня гемоглобіну, гематокриту, а також зміни водно-електролітного та кислотно-лужного балансу [17]. Погіршення оксигенації тканин і згущення крові розглядаються як важливі механізми негативного впливу спеки на організм тварин [18].

Не менш важливими є зміни лейкоцитарної формули та функціонального стану клітин імунної системи. Установлено, що хронічне або повторне теплове навантаження супроводжується зростанням частки нейтрофілів, зниженням кількості лімфоцитів, змінами моноцитарної ланки та ознаками пригнічення адаптивного імунітету. Подібні зрушення трактують як стрес-індуковану переорієнтацію організму на механізми швидкого природного захисту при одночасному ослабленні специфічної імунної відповіді [19–20].

Доведено також, що тепловий стрес впливає не лише на кількісний склад лейкоцитів, але й на їх функціональну активність. За гіпертермії змінюються процеси фагоцитозу, життєздатність нейтрофілів, активність мононуклеарів та експресія генів, пов'язаних з імунною відповіддю. Це свідчить про глибший рівень перебудови захисних механізмів, ніж проста зміна клітинного складу крові [21–23].

Поряд із клітинними змінами хронічний тепловий стрес супроводжується вираженими імунометаболічними порушеннями. У корів за високих температур довкілля відзначали підвищення концентрації кортизолу, зміни обміну глюкози та ліпідів, мобілізацію вільних жирних кислот, активацію процесів пероксидації ліпідів та послаблення антиоксидантного захисту. Це свідчить про тісний взаємозв'язок між ендокринною, метаболічною та імунною відповіддю організму [24–26].

Окремі дослідження вказують, що саме сезонне теплове навантаження може бути сильнішим чинником імунної дисфункції, ніж втрата маси тіла чи коливання продуктивності. За таких умов у корів зменшується кількість лейкоцитів та одночасно посилюються прояви системного запалення [20]. Це має практичне значення, оскільки субклінічні імунні порушення часто передують клінічним захворюванням вимені, кінцівок або репродуктивної системи.

Для контролю впливу теплового стресу нині активно застосовують неінвазивні методи, що базуються на використанні температурно-вологісного індексу, поведінкових реакцій, температури поверхні тіла, автоматизованого моніторингу споживання корму та цифрових сенсорних систем. Такі підходи є перспективними для виробництва, однак вони не завжди дозволяють безпосередньо оцінити глибину метаболічних та імунних зрушень в організмі [27].

У зв'язку з цим лабораторні показники крові залишаються найбільш об'єктивними індикаторами функціонального стану організму. Разом із тим розширені імунологічні дослідження, зокрема визначення імуноглобулінів, циркулюючих імунних комплексів, бактерицидної та лізоцимної активності сироватки крові, потребують спеціалізованого обладнання, підготовленого

персоналу та додаткових витрат. Для виробничих господарств це часто обмежує можливість регулярного скринінгу великих груп тварин.

Перспективною альтернативою є використання інтегральних лейкоцитарних індексів, що розраховуються на основі стандартного клінічного аналізу крові. Такі показники відображають співвідношення між окремими популяціями лейкоцитів і дозволяють комплексно оцінити напруженість запальної реакції, адаптаційний резерв, ступінь інтоксикації та загальний стан імунореактивності організму [28]. У медичній практиці вони використовуються давно, однак у ветеринарній медицині та особливо щодо великої рогатої худоби їх застосування залишається недостатньо вивченим [29].

Додатковим аргументом на користь діагностичної цінності гематологічних показників є встановлені кореляційні зв'язки між метаболічними та гематологічними біомаркерами у корів, що підтверджує інформативність системи крові як універсального індикатора фізіологічного статусу тварин [13].

Попри значну кількість публікацій, присвячених тепловому стресу, питання використання інтегральних лейкоцитарних індексів як доступних маркерів імунного статусу за умов саме хронічного теплового навантаження у молочних корів досліджене недостатньо. Недостатньо з'ясовано, наскільки ці індекси здатні відображати зміни гуморальної ланки імунітету та чи можуть вони бути економічно доцільною альтернативою вартісним лабораторним тестам у виробничих умовах.

Мета дослідження. Встановити особливості змін інтегральних лейкоцитарних індексів у корів голштинської породи за умов хронічного теплового стресу, оцінити їх діагностичну інформативність та обґрунтувати можливість використання як економічно доступних маркерів імунного статусу у виробничих умовах.

Виклад основного матеріалу дослідження. Дослідження проводили в умовах комерційного промислового молочного комплексу в Дніпропетровській області (48°28'44" пн. ш., 35°36'46" сх. д.). З чистопородних корів голштинської породи другої-третьої лактації, випадковим чином сформували дві групи-аналогів по 10 голів у кожній: дослідну групу – влітку, за умов теплового навантаження (в серпні), контрольну групу – в осінній термонеутральний період (у жовтні). Достовірної різниці за кількістю днів лактації між дослідною ($130,2 \pm 3,13$) і контрольною ($130,5 \pm 2,81$) групами не було. Середньодобовий надій становив відповідно $24,6 \pm 0,45$ та $24,8 \pm 0,48$ кг, без достовірних відмінностей. Утримання корів безприв'язне у великогабаритному природно-вентильованому приміщенні на піщаній підстилці в боксах. Годували з кормового столу повнораціонною кормовою сумішшю на основі кукурудзяного силосу. Раціони годівлі були збалансовані за поживними речовинами відповідно до рекомендацій Національної дослідницької ради (NRC, 2001). Кормова суміш складалася з вівса, зерна кукурудзи, люцернового силосу, сіна злакових культур, пшеничної соломи, ріпакового, соняшникового і соєвого шроту, бурякового жому, а також мінерально-вітамінної добавки. Компоненти ретельно змішували

у спеціалізованих кормозмішувачах, обладнаних електронними вагами, що забезпечувало однорідність раціону. Частоту годівлі та нормування кормів контролювали за допомогою комп'ютеризованої системи. Приміщення було обладнане кормовим проходом і шістьма напувалками, до яких тварини мали вільний доступ упродовж доби. Такі умови утримання та годівлі забезпечували належний фізіологічний стан і продуктивність корів. При поводженні з тваринами дотримувалися принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, дослідження були схвалені Комісією з біоетики Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Температуру повітря та відносну вологість у приміщенні реєстрували за допомогою портативного термогігрометра Benetech GM 1360 (Shenzhen Jumaoyuan Science and Technology Co., Ltd., Китай). Рівень теплового навантаження оцінювали за температурно-вологісним індексом (ТНІ), розрахованим за формулою Kibler (1964) [30]. Відбору проб крові у тварин дослідної групи (у серпні) передував безперервний 45-денний період теплового навантаження. Під час відбору проб крові в корів дослідної групи значення ТНІ у приміщенні коливалися в межах 77,9–78,6 одиниць. Відбору проб крові в тварин контрольної групи (в жовтні) передував період температурного комфорту, коли значення ТНІ стабільно залишалося нижчим за 68 одиниць, тобто через 21 добу після останнього дня з ознаками теплового стресу ($\text{ТНІ} \geq 72$).

Зразки крові відбирали шляхом пункції яремної вени в ранкові години до роздавання корму у пробірки Vacutainer® об'ємом 5 мл без антикоагулянта та 2 мл з ЕДТА (Aichele Medico AG, Базель, Швейцарія). Загальний аналіз крові проводили на автоматичному гематологічному аналізаторі Sysmex XS-1000i (Sysmex Corporation, Японія). Рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) визначали методом селективного осадження з використанням розчину поліетиленгліколю-6000 [31]. Концентрацію імуноглобулінів класів А, G та М (IgA, IgG, IgM) у сироватці крові визначали на автоматичному біохімічному аналізаторі Cobas Integra 400 Plus (Hoffmann-La Roche Ltd, Швейцарія). Лізоцимну активність сироватки крові (ЛАСК) та бактерицидну активність сироватки крові (БАСК) визначали фотоелектроколориметричним методом [32]. Лізоцимну активність визначали за методом А. Г. Дорофейчука (1968) у модифікації щодо температурних умов реакції між сироваткою крові корів і культурою *Micrococcus lysodeikticus* у фосфатному буфері. Бактерицидну активність сироватки крові визначали фотоелектроколориметричним методом у модифікації О.В. Смирнової та Т.А. Кузьміної (1966) з використанням тест-культури *Escherichia coli*. Диференціальний підрахунок лейкоцитів проводили у мазках крові, забарвлених за методом Романовського–Гімзи, з підрахунком 200 клітин у кожному препараті. Визначали частку паличкоядерних і сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів, еозинофілів та базофілів. Для оцінки імунної відповіді використовували інтегральні лейкоцитарні індекси (ЛІІ), які широко застосовуються у біомедичних дослідженнях та були адаптовані з урахуванням лейкоцитарного профілю великої рогатої худоби [29].

У мазках крові клінічно здорових корів мієлоїдні попередники (мієлоцити, метамієлоцити, плазматичні клітини) не виявлялися, тому до розрахунків не включалися. У дослідженні використовували такі інтегральні лейкоцитарні індекси: індекс ядерного зсуву (ІЯЗ) = $(П + 1) / С$, характеризує ступінь зсуву лейкограми вліво; лейкоцитарний індекс (ЛІ) = $Л / (П + С)$, відображає співвідношення лімфоцитарної та нейтрофільної ланок; лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ) = $(2 \times П + С) / ((Л + М) \times (Е + 1))$, характеризує рівень ендогенної інтоксикації та запальної реакції; лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ЛГІ) = $10 \times Л / (П + С + Е)$, відображає баланс між адаптивною та вродженою імунною відповіддю; нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення (НЛС) = $(П + С) / Л$, характеризує активність вродженого імунітету; лімфоцитарно-еозинофільне співвідношення (ЛЕС) = $Л / (Е + 1)$, відображає імунорегуляторний стан та алергізацію; нейтрофільно-моноцитарне співвідношення (НМС) = $(П + С) / (М + 1)$, характеризує співвідношення короткоживучих і довгоживучих фагоцитів; лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення (ЛМС) = $Л / (М + 1)$, характеризує тенденції адаптивної імунної відповіді; індекс алергізації (ІА) = $(Л - (Е + 1)) / (П + С + М)$, відображає імунні реакції за участю еозинофілів; індекс адаптації за Гаркаві (ІАГ) = $Л / С$, характеризує адаптаційний потенціал організму; індекс імунореактивності (ІІР) = $(Л + Е) / (М + 1)$, оцінює загальну імунну реактивність; індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛ) = $(Е + С + П) / (Л + М)$, характеризує гранулоцитарно-лімфоцитарний баланс; індекс реактивної відповіді нейтрофілів (РВН) = $(П + 1) \times С / ((Л + М) \times (Е + 1))$, характеризує функціональну реактивність нейтрофілів. У формулах використано такі позначення: П – паличкоядерні нейтрофіли, С – сегментоядерні нейтрофіли, Л – лімфоцити, М – моноцити, Е – еозинофіли. Усі показники лейкоцитарної формули виражали у відсотках (%).

Статистичну обробку даних проводили з використанням програми Statistica 12 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Результати подавали у вигляді середнього значення (M) та стандартної похибки середнього (m). Оскільки розподіл більшості показників не відповідав критеріям нормальності, для подальшого аналізу застосовували непараметричні методи статистики. Достовірність відмінностей між вибірками визначали за критерієм Манна-Уїтні. Різницю вважали статистично значущою за $p < 0,05$.

Встановлено, що тривалий тепловий стрес суттєво впливав на показники неспецифічної резистентності та гуморальної ланки імунітету корів (табл. 1). Найбільш виражені зміни встановлено за ЛАСК, яка у тварин дослідної групи знизилася на 48 % порівняно з контролем ($p < 0,05$). Це свідчить про пригнічення одного з ключових механізмів природного захисту організму в умовах тривалого теплового навантаження. Подібне послаблення факторів вродженого імунітету за дії високих температур описане і в інших дослідженнях, де тепловий стрес супроводжувався зниженням функціональної активності імунної системи [33].

Таблиця 1

Імунобіологічні показники крові корів за умов хронічного теплового стресу ($M \pm m$)

Показник	Група		p-value
	дослідна	контрольна	
IgA, г/л	0,43 $\pm$ 0,255	0,31 $\pm$ 0,089	0,6904
IgG, г/л	1,22 $\pm$ 0,089	1,174 $\pm$ 0,040	0,5476
IgM, г/л	0,05 $\pm$ 0,010	0,046 $\pm$ 0,0296	0,6904
ЦІК, ум. од.	5,15 $\pm$ 1,691	3,78 $\pm$ 1,819	0,1811
ЛАСК, %	22,99 $\pm$ 19,87	43,82 $\pm$ 16,357	0,0137
БАСК, %	53,57 $\pm$ 20,171	43,16 $\pm$ 12,473	0,2029

Примітка: ЦІК – циркулюючі імунні комплекси; ЛАСК – лізоцимна активність сироватки крові; БАСК – бактерицидна активність сироватки крові.

Водночас БАСК у корів дослідної групи була вищою на 24 %, що можна розглядати як компенсаторну реакцію, спрямовану на підтримання системної антибактеріальної резистентності. Підвищення рівня ЦІК на 36 % також вказує на активацію імунної системи у відповідь на посилене антигенне навантаження та можливі процеси клітинного ушкодження за дії теплового стресу. Зростання маркерів системної імунної відповіді та запалення за перегрівання раніше відзначали й інші автори [34–35].

Концентрації основних класів імуноглобулінів у сироватці крові істотно не змінювалися. Рівень IgG та IgM залишався відносно стабільним, тоді як вміст IgA мав тенденцію до підвищення на 43 % у дослідній групі порівняно з контролем. Така динаміка може свідчити про активацію адаптивної, насамперед мукозальної, імунної відповіді в умовах тривалого теплового навантаження, оскільки саме слизові оболонки є одними з перших бар'єрів, що реагують на стресові чинники середовища [36–37].

Отримані результати свідчать, що хронічний тепловий стрес у корів супроводжується не лише пригніченням окремих факторів природної резистентності, а й одночасним запуском компенсаторних механізмів гуморального захисту, що відображає складний адаптаційний характер імунної відповіді організму.

Тривале теплове навантаження супроводжувалося вираженими змінами клітинної ланки імунітету у корів голштинської породи (табл. 2). Загальна кількість лейкоцитів у дослідній групі була на 17,5 % вищою порівняно з контролем, однак статистично значущої різниці не встановлено ($p > 0,05$). Подібна тенденція до помірного лейкоцитозу за дії високих температур описана у корів та інших видів сільськогосподарських тварин як прояв системної стресової реакції [38–39].

Таблиця 2

Вплив хронічного теплового стресу на лейкоцитарний профіль крові та інтегральні лейкоцитарні індекси у корів голштинської породи ($M \pm m$)

Показник	Група		p-value
	дослідна	контрольна	
Лейкоцити, Г/л	$11,77 \pm 4,013$	$10,02 \pm 1,518$	0,2144
Лейкоцитарна формула, %			
Паличкаядерні нейтрофіли	$4,58 \pm 2,503$	$2,08 \pm 1,443$	0,0035
Сегментоядерні нейтрофіли	$55,83 \pm 10,894$	$45,42 \pm 10,378$	0,0525
Моноцити	$2,75 \pm 1,422$	$4,75 \pm 2,261$	0,0183
Лімфоцити	$34,42 \pm 9,995$	$45,17 \pm 11,158$	0,0404
Еозинофіли	$4,50 \pm 2,664$	$2,58 \pm 2,466$	0,7905
Інтегральні лейкоцитарні індекси			
Індекс ядерного зсуву (ІЯЗ)	$24,90 \pm 10,29$	$11,82 \pm 5,16$	0,0038
Лейкоцитарний індекс (ЛІ)	$0,62 \pm 0,255$	$0,99 \pm 0,511$	0,0883
Лейкоцитарний індекс інтоксикації (ЛІІ)	$0,39 \pm 0,233$	$0,43 \pm 0,218$	0,5063
Лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ЛГІ)	$5,79 \pm 2,329$	$9,57 \pm 4,89$	0,0605
Нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення (НЛС)	$2,01 \pm 1,243$	$1,22 \pm 0,522$	0,0883
Лімфоцитарно-еозинофільне співвідношення (ЛЕС)	$7,42 \pm 3,83$	$17,08 \pm 7,94$	0,0013
Нейтрофільно-моноцитарне співвідношення (НМС)	$37,50 \pm 28,44$	$24,32 \pm 20,15$	0,3708
Лімфоцитарно-моноцитарне співвідношення (ЛМС)	$19,80 \pm 14,47$	$23,10 \pm 21,60$	0,9308
Індекс алергізації (ІА)	$0,51 \pm 0,237$	$0,89 \pm 0,497$	0,0404
Індекс адаптації за Гаркаві (ІАГ)	$14,20 \pm 5,82$	$13,04 \pm 9,903$	0,2851
Індекс імунореактивності (ІІР)	$22,80 \pm 16,08$	$24,20 \pm 22,33$	0,9309
Індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛ)	$2,07 \pm 1,37$	$1,20 \pm 0,522$	0,0885
Індекс реактивної відповіді нейтрофілів (РВН)	$0,87 \pm 0,404$	$1,94 \pm 1,399$	0,0998

Примітка. Достовірність відмінностей між групами визначали за критерієм Манна–Уїтні.

Найбільш чутливим показником лейкоцитарної формули виявилися паличкаядерні нейтрофіли, частка яких за умов теплового стресу зросла у 2,2 раза ($p < 0,01$). Частка сегментоядерних нейтрофілів також мала тенденцію до підвищення (на 22,9 %; $p = 0,0525$). Це свідчить про активацію гранулоцитопоезу

та мобілізацію нейтрофільної ланки природного захисту організму за умов тривалого перегрівання. Аналогічне зростання нейтрофілів та нейтрофільно-лімфоцитарного співвідношення за теплового стресу відзначено в роботах інших дослідників [40–41].

Одночасно у корів дослідної групи встановлено зниження частки моноцитів на 42,1 % ($p < 0,05$) та лімфоцитів на 23,8 % ($p < 0,05$), що може вказувати на виснаження фагоцитарного резерву й послаблення адаптивної імунної відповіді. Зниження лімфоцитарної ланки за хронічного теплового стресу узгоджується з даними про пригнічення клітинного імунітету та імунорегуляторних процесів у великої рогатої худоби [42].

Виявлені зміни лейкоцитарної формули закономірно відобразилися у значеннях інтегральних лейкоцитарних індексів. Індекс ядерного зсуву (ІЯЗ) у корів дослідної групи зріс у 2,1 раза ($p < 0,01$), що підтверджує посилений вихід молодих форм нейтрофілів у периферичну кров та зсув лейкограми вліво.

Показники, пов'язані з лімфоцитарною регуляцією, навпаки, знижувалися. Лімфоцитарно-еозинофільне співвідношення (ЛЕС) зменшилося на 56,6 % ($p < 0,01$), а індекс алергізації (ІА) – на 42,7 % ($p < 0,05$), що свідчить про зниження імунорегуляторної стабільності та адаптаційного резерву організму.

У біологічно очікуваному напрямі змінювалися й інші індекси: лейкоцитарний індекс (ЛІ) знижувався на 37,4 %, лімфоцитарно-гранулоцитарний індекс (ЛГІ) – на 39,5 %, індекс реактивної відповіді нейтрофілів (РВН) – на 55,2 %, тоді як нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення (НЛС) зросло на 64,8 %, а індекс зсуву лейкоцитів (ІЗЛ) – на 72,5 %. Однак ці зміни не досягали статистичної значущості.

Таким чином, хронічний тепловий стрес у корів характеризувався активацією нейтрофіл-асоційованих механізмів природного захисту одночасно з пригніченням лімфоцитозалежної адаптивної відповіді, що загалом узгоджується з сучасними уявленнями про імунну перебудову організму за тривалого перегрівання [33, 35, 43].

Проведений кореляційний аналіз підтвердив інформативність інтегральних лейкоцитарних індексів як доступних маркерів імунного статусу корів за умов хронічного теплового стресу (табл. 3). Найбільш виражені взаємозв'язки встановлено між показниками, що характеризують нейтрофільну реакцію, та концентрацією імуноглобуліну А.

Зокрема, між НЛС та рівнем IgA виявлено сильний прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,873$; $p < 0,05$). Подібний за силою зв'язок встановлено також для ІЗЛ ($r = 0,869$; $p < 0,05$). Це свідчить, що активація нейтрофільної ланки природного захисту супроводжується посиленням гуморальної, насамперед мукозальної, імунної відповіді.

ІЯЗ мав достовірний позитивний зв'язок із рівнем циркулюючих імунних комплексів ($r = 0,537$; $p < 0,05$), що може відображати взаємозв'язок між мобілізацією молодих форм нейтрофілів та підвищеним антигенним навантаженням організму за тривалого теплового стресу.

Таблиця. 3

Кореляційні зв'язки між інтегральними лейкоцитарними індексами та імунобіологічними показниками крові корів

Інтегральні лейкоцитарні індекси	IgA, г/л	IgG, г/л	IgM, г/л	ЦІК, ум. од.	ЛАСК, %	БАСК, %
ІАЗ	0,618	-0,384	-0,141	0,537*	-0,318	-0,094
ЛП	-0,568	-0,282	-0,488	-0,291	0,074	0,080
ЛПІ	0,631	-0,150	-0,116	-0,018	0,227	-0,275
ЛГІ	-0,554	-0,308	-0,515	-0,291	0,071	0,069
НЛС	0,873*	0,046	0,061	0,368	0,008	-0,268
ЛЕС	-0,437	-0,335	-0,629	-0,281	0,118	-0,053
НМС	0,501	0,377	-0,130	0,308	0,131	-0,385
ЛМС	-0,348	0,299	-0,511	0,115	0,184	-0,161
ІА	-0,556	-0,286	-0,521	-0,305	0,094	0,078
ІАГ	-0,398	-0,524	-0,552	0,264	-0,229	0,082
ІІР	-0,302	0,406	-0,489	0,162	0,185	-0,205
ІЗЛ	0,869*	0,106	0,066	0,369	0,013	-0,286
РВН	0,389	0,091	0,089	-0,349	0,362	-0,124

Примітка. * – $p < 0,05$. ЦІК – циркулюючі імунні комплекси; ЛАСК – лізоцимна активність сироватки крові; БАСК – бактерицидна активність сироватки крові.

Для індексів, пов'язаних з переважанням лімфоцитарної ланки, характерними були переважно зворотні зв'язки з IgA та IgM. Так, ЛП, ЛГІ та ІА демонстрували негативну кореляцію з рівнем IgA, що свідчить про зміщення імунного балансу у бік нейтрофіл-асоційованих реакцій.

Зв'язки ІЛІ із ЛАСК та БАСК були менш вираженими, що може вказувати на відносну автономність гуморальних факторів природної резистентності від клітинних перебудов лейкоцитарної формули.

Таким чином, результати кореляційного аналізу підтверджують, що ІЛІ відображають ключові зміни як клітинної, так і гуморальної ланок імунітету та можуть використовуватися як економічно доцільний інструмент первинного моніторингу імунного статусу корів за умов тривалого теплового навантаження.

Слід зазначити, що лейкоцитарні індекси, розраховані на основі одного розгорнутого аналізу крові з лейкоцитарною формулою, є у 4.5 раза дешевшими за окреме визначення IgA, IgG, IgM і циркулюючих імунних комплексів та майже у 8 разів – за розширене імунологічне обстеження, що підкреслює їх практичну цінність як доступних маркерів імунного статусу за теплового стресу. Крім того, визначення ЛАСК та БАСК зазвичай потребує спеціалізованих лабораторних методик, додаткового обладнання та стандартизованих умов виконання, що обмежує їх широке застосування у рутинному клінічному моніторингу.

Натомість ІЛІ можуть бути оперативно отримані без суттєвих додаткових витрат із результатів загального аналізу крові, що робить їх зручним, економічно обґрунтованим і практично орієнтованим інструментом оцінки імунного статусу корів в умовах теплового навантаження. За наявності встановлених кореляцій з гуморальними показниками вони забезпечують клінічно релевантну за практичною цінністю інформацію щодо стану імунної відповіді та можуть використовуватися як економічно доцільний підхід для первинного скринінгу без застосування вартісних лабораторних тестів.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Хронічний тепловий стрес у корів голштинської породи супроводжується вираженими змінами показників неспецифічної резистентності, гуморальної та клітинної ланок імунітету. Це проявляється зниженням лізоцимної активності сироватки крові, підвищенням рівня циркулюючих імунних комплексів, а також перебудовою лейкоцитарної формули з активацією нейтрофільної ланки природного захисту та пригніченням адаптивної імунної відповіді.

Найбільш інформативними інтегральними лейкоцитарними індексами за умов тривалого теплового навантаження виявилися індекс ядерного зсуву, нейтрофільно-лімфоцитарне співвідношення, індекс зсуву лейкоцитів та лімфоцитарно-еозинофільне співвідношення. Саме ці показники найбільш чітко відображали розвиток стрес-асоційованих змін імунного статусу та можуть розглядатися як чутливі маркери адаптаційної відповіді організму.

Встановлені кореляційні зв'язки між інтегральними лейкоцитарними індексами та імунобіологічними показниками крові підтверджують можливість використання цих індексів як доступних непрямих індикаторів функціонального стану імунної системи корів за теплового стресу. Лейкоцитарні індекси, розраховані на основі одного розгорнутого аналізу крові, є економічно доцільним інструментом первинного моніторингу, оскільки не потребують застосування вартісних лабораторних методів та можуть ефективно використовуватися в умовах виробничих молочних ферм.

Перспективи подальших досліджень полягають у визначенні порогових значень інтегральних лейкоцитарних індексів для раннього виявлення теплового стресу, оцінці їх прогностичної цінності щодо продуктивності, резистентності та захворюваності корів, а також у розробленні практичних схем скринінгу для господарств різного технологічного типу.

Автор підтверджує відсутність потенційного чи наявного конфлікту інтересів, який міг би вплинути на результати дослідження та публікації

Список використаної літератури

1. Dahl, G. E., Tao, S., & Laporta, J. (2020). Heat Stress Impacts Immune Status in Cows Across the Life Cycle. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00116>
2. Gupta, S., Sharma, A., Joy, A., Dunshea, F. R., & Chauhan, S. S. (2022). The Impact of Heat Stress on Immune Status of Dairy Cattle and Strategies to Ameliorate the Negative Effects. *Animals*, 13(1), 107. <https://doi.org/10.3390/ani13010107>

3. Chen, X., Shu, H., Sun, F., Yao, J., & Gu, X. (2023). Impact of Heat Stress on Blood, Production, and Physiological Indicators in Heat-Tolerant and Heat-Sensitive Dairy Cows. *Animals*, 13(16), 2562. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13162562>
4. Hoffmann, G., Silpa, M. V., Mylostyvyi, R., & Sejian, V. (2021). Non-Invasive Methods to Quantify the Heat Stress Response in Dairy Cattle. *Climate Change and Livestock Production: Recent Advances and Future Perspectives*, 85–98. https://doi.org/10.1007/978-981-16-9836-1_8
5. Grelet, C., Vanden Dries, V., Leblois, J., Wavreille, J., Mirabito, L., Soyeurt, H., Franceschini, S., Gengler, N., Brostaux, Y., HappyMoo Consortium, & Dehareng, F. (2022). Identification of chronic stress biomarkers in dairy cows. *Animal*, 16(5), 100502. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100502>
6. Kim, H., Jo, J.-H., Lee, H.-G., Park, W., Lee, H.-K., Park, J.-E., & Shin, D. (2024). Inflammatory response in dairy cows caused by heat stress and biological mechanisms for maintaining homeostasis. *PLOS ONE*, 19(3), e0300719. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300719>
7. Sejian, V., Shashank, C. G., Silpa, M. V., Madhusoodan, A. P., Devaraj, C., & Koenig, S. (2022). Non-Invasive Methods of Quantifying Heat Stress Response in Farm Animals with Special Reference to Dairy Cattle. *Atmosphere*, 13(10), 1642. <https://doi.org/10.3390/atmos13101642>
8. Zeng, J., Cai, J., Wang, D., Liu, H., Sun, H., & Liu, J. (2023). Heat stress affects dairy cow health status through blood oxygen availability. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00915-3>
9. Blond, B., Majkić, M., Spasojević, J., Hristov, S., Radinović, M., Nikolić, S., Anđušić, L., Čukić, A., Došenović Marinković, M., Vujanović, B. D., Obradović, N., & Cincović, M. (2024). Influence of Heat Stress on Body Surface Temperature and Blood Metabolic, Endocrine, and Inflammatory Parameters and Their Correlation in Cows. *Metabolites*, 14(2), 104. <https://doi.org/10.3390/metabo14020104>
10. Skliarov, P., Kornienko, V., Midyk, S., & Mylostyvyi, R. (2022). Impaired reproductive performance of dairy cows under heat stress. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 87(2), 85-92.
11. Koch, F., Viergutz, T., Kühn, C., & Kuhla, B. (2025). Dynamic immune and molecular responses to chronic heat stress in blood and peripheral blood mononuclear cells of dairy cows. *Frontiers in Immunology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1633453>
12. Stefanska, B., Pruszyńska-Oszmalek, E., Fievez, V., Purwin, C., & Nowak, W. (2024). Impact of heat stress during close-up dry period on performance, fertility and immunometabolic blood indices of dairy cows: prospective cohort study. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72294-2>
13. Chabanenko, D., & Shynkarenko, R. (2026). Correlation between key blood biomarkers (beta-hydroxybutyrate, glucose, lipoproteins) and haematological parameters in Brown Swiss cows housed in a naturally ventilated barn. *Agrarian Bulletin of the Black Sea Littoral*, (118), 222–242. <https://doi.org/10.37000/abbsl.2026.118.15>
14. Chen, X., Shu, H., Sun, F., Yao, J., & Gu, X. (2023). Impact of Heat Stress on Blood, Production, and Physiological Indicators in Heat-Tolerant and Heat-Sensitive Dairy Cows. *Animals*, 13(16), 2562. <https://doi.org/10.3390/ani13162562>
15. Lacetera, N., Bernabucci, U., Scalia, D., Basiricò, L., Morera, P., & Nardone, A. (2006). Heat Stress Elicits Different Responses in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Brown Swiss and Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*, 89(12), 4606–4612. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72510-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72510-3)
16. Mylostyvyi, R., Lesnovskay, O., Karlova, L., Khmeleva, O., Kalinichenko, O., Orishchuk, O., Tsap, S., Begma, N., Cherniy, N., Gutyj, B., & Izhboldina, O. (2021). Brown Swiss cows are more heat resistant than Holstein cows under hot summer conditions of the continental climate of Ukraine. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 9(4), 1–8. DOI: <https://doi.org/10.31893/jabb.21034>



17. Lora, I., Calderone, C., Prussiani, L., Contiero, B., Malagoli, S., Lotto, A., & Cozzi, G. (2024). Reference limits for blood gas analysis performed from coccygeal vessels of multiparous Holstein dairy cows: Effects of stage of lactation and season of sampling. *Journal of Dairy Science*, 107(11), 9839–9846. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24859>
18. Mylostyva, D., Prudnikov, V., Kolisnyk, O., Lykhach, A., Begma, N., Kalinichenko, O., Khmeleva, O., Sanzhara, R., Izhboldina, O., & Mylostyvyi, R. (2022). Biochemical changes during heat stress in productive animals with an emphasis on the antioxidant defense system. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 10(1), 2209. <https://doi.org/10.31893/jabb.22009>
19. Joo, S. S., Lee, S. J., Park, D. S., Kim, D. H., Gu, B.-H., Park, Y. J., Rim, C. Y., Kim, M., & Kim, E. T. (2021). Changes in Blood Metabolites and Immune Cells in Holstein and Jersey Dairy Cows by Heat Stress. *Animals*, 11(4), 974. <https://doi.org/10.3390/ani11040974>
20. Zachut, M., Kra, G., Nemes-Navon, N., Ben-Aharon, N., Moallem, U., Lavon, Y., & Jacoby, S. (2020). Seasonal heat load is more potent than the degree of body weight loss in dysregulating immune function by reducing white blood cell populations and increasing inflammation in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 10809–10822. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18547>
21. Cartwright, S. L., McKechnie, M., Schmied, J., Livernois, A. M., & Mallard, B. A. (2021). Effect of in-vitro heat stress challenge on the function of blood mononuclear cells from dairy cattle ranked as high, average and low immune responders. *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02940-8>
22. Livernois, A. M., Mallard, B. A., Cartwright, S. L., & Cánovas, A. (2021). Heat stress and immune response phenotype affect DNA methylation in blood mononuclear cells from Holstein dairy cows. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89951-5>
23. Scatà, M. C., Alhussien, M. N., Grandoni, F., Reale, A., Zampieri, M., Hussen, J., & De Matteis, G. (2024). Hyperthermia-induced changes in leukocyte survival and phagocytosis: a comparative study in bovine and buffalo leukocytes. *Frontiers in Veterinary Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1327148>
24. Abbas, Z., Sammad, A., Hu, L., Fang, H., Xu, Q., & Wang, Y. (2020). Glucose Metabolism and Dynamics of Facilitative Glucose Transporters (GLUTs) under the Influence of Heat Stress in Dairy Cattle. *Metabolites*, 10(8), 312. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo10080312>
25. Alberghina, D., Amato, A., Brancato, G., Cavallo, C., Liotta, L., & Lopreiato, V. (2024). Impact of Heat Stress on the Balance between Oxidative Markers and the Antioxidant Defence System in the Plasma of Mid-Lactating Modicana Dairy Cows. *Animals*, 14(14), 2034. <https://doi.org/10.3390/ani14142034>
26. Farafonov, S., Yaremko, O., Gutyj, B., Cherniy, N., Kozyr, V., Lykhach, A., Skliarov, P., Khmeleva, O., Mylostyva, D., & Mylostyvyi, R. (2024). Functional activity of blood neutrophils and immune status of heifers under the influence of probiotics. *Veterinarska Stanica*, 56(1), 29–38. <https://doi.org/10.46419/vs.56.1.8>
27. Mylostyvyi, R., & Izhboldina, O. (2025). An Integrated Approach Using Temperature–Humidity Index, Productivity, and Welfare Indicators for Herd-Level Heat Stress Assessment in Dairy Cows. *Animals*, 15(22), 3341. <https://doi.org/10.3390/ani15223341>
28. Minias, P. (2019). Evolution of heterophil/lymphocyte ratios in response to ecological and life-history traits: A comparative analysis across the avian tree of life. *Journal of Animal Ecology*, 88(4), 554–565. Portico. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12941>
29. Mylostyvyi, R., Sejian, V., Izhboldina, O., Sanzhara, R., Chernenko, Olena, Dochkin, D., & Hoffmann, G. (2026). Changes in leukocyte indices of Holstein cows under prolonged heat stress conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 58(2). <https://doi.org/10.1007/s11250-026-04910-4>
30. Mylostyvyi, R., Lacetera, N., Amadori, M., Sejian, V., Souza-Junior, J. B. F., & Hoffmann, G. (2023). The autumn low milk yield syndrome in Brown Swiss cows in continental climates:



- hypotheses and facts. *Veterinary Research Communications*, 48(1), 203–213. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10203-0>
31. Hašková, V., Kašlík, J., Říha, I., Matl, I., & Rovenský, J. (1978). Simple Method of Circulating Immune Complex Detection in Human Sera by Polyethylene Glycol Precipitation. *Zeitschrift Für Immunitätsforschung: Immunobiology*, 154(4), 399–406. [https://doi.org/10.1016/s0340-904x\(78\)80012-8](https://doi.org/10.1016/s0340-904x(78)80012-8)
32. Влізло В.В., Федорчук Р.С., Ратич І.Б. та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. Львів: Сполом, 2012. 764 с.
33. Alhussien, M. N., Hussen, J., & De Matteis, G. (2024). Editorial: Heat stress and immune responses in livestock: current challenges and intervention strategies. *Frontiers in Veterinary Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1366274>
34. Blond, B., Majkić, M., Spasojević, J., Hristov, S., Radinović, M., Nikolić, S., Anđušić, L., Čukić, A., Došenović Marinković, M., Vujanović, B. D., Obradović, N., & Cincović, M. (2024). Influence of Heat Stress on Body Surface Temperature and Blood Metabolic, Endocrine, and Inflammatory Parameters and Their Correlation in Cows. *Metabolites*, 14(2), 104. <https://doi.org/10.3390/metabo14020104>
35. Lemal, P., May, K., König, S., Schroyen, M., & Gengler, N. (2023). Invited review: From heat stress to disease—Immune response and candidate genes involved in cattle thermotolerance. *Journal of Dairy Science*, 106(7), 4471–4488. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22727>
36. Koch, F., Otten, W., Sauerwein, H., Reyer, H., & Kuhla, B. (2023). Mild heat stress–induced adaptive immune response in blood mononuclear cells and leukocytes from mesenteric lymph nodes of primiparous lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 106(4), 3008–3022. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22520>
37. Kim, W.-S., Nejad, J. G., Park, K.-K., & Lee, H.-G. (2023). Heat Stress Effects on Physiological and Blood Parameters, and Behavior in Early Fattening Stage of Beef Steers. *Animals*, 13(7), 1130. <https://doi.org/10.3390/ani13071130>
38. Barnes, T. L., Burrack, R. M., Schmidt, T. B., Petersen, J. L., & Yates, D. T. (2021). Sustained heat stress elevated corneal and body surface temperatures and altered circulating leukocytes and metabolic indicators in wether lambs supplemented with ractopamine or zilpaterol. *Journal of Animal Science*, 99(9). <https://doi.org/10.1093/jas/skab236>
39. Park, D. S., Gu, B.-H., Park, Y. J., Joo, S. S., Lee, S.-S., Kim, S.-H., Kim, E. T., Kim, D. H., Lee, S. S., Lee, S. J., Kim, B.-W., & Kim, M. (2021). Dynamic changes in blood immune cell composition and function in Holstein and Jersey steers in response to heat stress. *Cell Stress and Chaperones*, 26(4), 705–720. <https://doi.org/10.1007/s12192-021-01216-2>
40. Tejaswi, V., Balachander, B., Samad, H. A., Sarkar, M., Maurya, V. P., & Singh, G. (2020). Assessment of heat stress induced alterations in polymorphonuclear (PMN) cell activity in native and crossbred cows. *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), 549–552. <https://doi.org/10.1080/09712119.2020.1829629>
41. Mayengbam, P., Upadhyay, R. C., Tolengkomba, T. C. (2021). Acute thermal exposure increases neutrophil-lymphocyte ratio of Sahiwal heifers. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 9(2), 240–243.
42. Das, P., Alex, R., Gowane, G. R., Vohra, V., Paul, D., Khan, K. D., Upadhyay, A., De, S., & Ludri, A. (2024). Chronic heat stress upregulates pyruvate metabolic process and gluconeogenesis but downregulates immune responses in Sahiwal cattle. *International Journal of Biometeorology*, 69(1), 195–208. <https://doi.org/10.1007/s00484-024-02804-4>

Roman Mylostyvyi,

Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor,
Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine
ORCID ID: 0000-0002-4450-8813



INTEGRAL LEUCOCYTE INDICES AS ACCESSIBLE MARKERS OF IMMUNE STATUS IN COWS UNDER HEAT STRESS CONDITIONS

Abstract

This study investigated the informative value of integral leucocyte indices (ILIs) as accessible markers of immune status in Holstein cows under conditions of chronic heat stress. The relevance of the study is determined by the increasing frequency of heat waves and the need to implement simple and economically feasible methods for monitoring the functional status of highly productive animals under commercial farming conditions. Prolonged heat load is known to be accompanied by suppression of natural resistance and disturbances in both cellular and humoral components of immunity, which requires timely diagnosis. The study was conducted on second- and third-lactation Holstein cows, from which two analogous groups of 10 animals each were randomly formed: an experimental group maintained during the summer period under heat load conditions, and a control group kept during the autumn thermoneutral period. The level of heat stress was assessed using the temperature-humidity index (THI), which ranged from 77.9 to 78.6 during the experimental period, whereas in the control group it remained below 68. Blood samples were analyzed for immunoglobulins of classes A, G, and M, circulating immune complexes (CICs), serum lysozyme activity (SLA), serum bactericidal activity (SBA), total and differential leucocyte counts, as well as ILIs. Statistical analysis was performed using the Mann–Whitney U test and Spearman correlation analysis. It was established that chronic heat stress was accompanied by a 48% decrease in SLA ($p < 0.05$), a 36% increase in CIC concentration, a 2.2-fold increase in band neutrophils ($p < 0.01$), and decreases in lymphocytes by 23.8% ($p < 0.05$) and monocytes by 42.1% ($p < 0.05$). The most informative indices were the nuclear shift index (NSI), neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), leucocyte shift index (LSI), and lymphocyte-to-eosinophil ratio (LER). A strong positive relationship was found between NLR and IgA level ($r = 0.873$; $p < 0.05$). ILIs calculated from a single complete blood count were 4.5 times less expensive than separate determination of humoral immunological parameters. The obtained data confirm the feasibility of using ILIs as an economically accessible and practically convenient tool for primary monitoring of immune status in cows under heat stress.

Keywords: dairy cattle; heat stress; immune status; leucocyte indices; natural resistance.

References

1. Dahl, G. E., Tao, S., & Laporta, J. (2020). Heat Stress Impacts Immune Status in Cows Across the Life Cycle. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00116>
2. Gupta, S., Sharma, A., Joy, A., Dunshea, F. R., & Chauhan, S. S. (2022). The Impact of Heat Stress on Immune Status of Dairy Cattle and Strategies to Ameliorate the Negative Effects. *Animals*, 13(1), 107. <https://doi.org/10.3390/ani13010107>
3. Chen, X., Shu, H., Sun, F., Yao, J., & Gu, X. (2023). Impact of Heat Stress on Blood, Production, and Physiological Indicators in Heat-Tolerant and Heat-Sensitive Dairy Cows. *Animals*, 13(16), 2562. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13162562>
4. Hoffmann, G., Silpa, M. V., Mylostyvyi, R., & Sejian, V. (2021). Non-Invasive Methods to Quantify the Heat Stress Response in Dairy Cattle. *Climate Change and Livestock Production: Recent Advances and Future Perspectives*, 85–98. https://doi.org/10.1007/978-981-16-9836-1_8
5. Grelet, C., Vanden Dries, V., Leblois, J., Wavreille, J., Mirabito, L., Soyeurt, H., Franceschini, S., Gengler, N., Brostaux, Y., HappyMoo Consortium, & Dehareng, F. (2022). Identification of chronic stress biomarkers in dairy cows. *Animal*, 16(5), 100502. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100502>

6. Kim, H., Jo, J.-H., Lee, H.-G., Park, W., Lee, H.-K., Park, J.-E., & Shin, D. (2024). Inflammatory response in dairy cows caused by heat stress and biological mechanisms for maintaining homeostasis. *PLOS ONE*, 19(3), e0300719. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0300719>
7. Sejian, V., Shashank, C. G., Silpa, M. V., Madhusoodan, A. P., Devaraj, C., & Koenig, S. (2022). Non-Invasive Methods of Quantifying Heat Stress Response in Farm Animals with Special Reference to Dairy Cattle. *Atmosphere*, 13(10), 1642. <https://doi.org/10.3390/atmos13101642>
8. Zeng, J., Cai, J., Wang, D., Liu, H., Sun, H., & Liu, J. (2023). Heat stress affects dairy cow health status through blood oxygen availability. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 14(1). <https://doi.org/10.1186/s40104-023-00915-3>
9. Blond, B., Majkić, M., Spasojević, J., Hristov, S., Radinović, M., Nikolić, S., Anđušić, L., Čukić, A., Došenović Marinković, M., Vujanović, B. D., Obradović, N., & Cincović, M. (2024). Influence of Heat Stress on Body Surface Temperature and Blood Metabolic, Endocrine, and Inflammatory Parameters and Their Correlation in Cows. *Metabolites*, 14(2), 104. <https://doi.org/10.3390/metabo14020104>
10. Skliarov, P., Kornienko, V., Midyk, S., & Mylostyvyi, R. (2022). Impaired reproductive performance of dairy cows under heat stress. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 87(2), 85-92.
11. Koch, F., Viergutz, T., Kühn, C., & Kuhla, B. (2025). Dynamic immune and molecular responses to chronic heat stress in blood and peripheral blood mononuclear cells of dairy cows. *Frontiers in Immunology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1633453>
12. Stefanska, B., Pruszyńska-Oszmalek, E., Fievez, V., Purwin, C., & Nowak, W. (2024). Impact of heat stress during close-up dry period on performance, fertility and immunometabolic blood indices of dairy cows: prospective cohort study. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-72294-2>
13. Chabanenko, D., & Shynkarenko, R. (2026). Correlation between key blood biomarkers (beta-hydroxybutyrate, glucose, lipoproteins) and haematological parameters in Brown Swiss cows housed in a naturally ventilated barn. *Agrarian Bulletin of the Black Sea Littoral*, (118), 222–242. <https://doi.org/10.37000/abbsl.2026.118.15>
14. Chen, X., Shu, H., Sun, F., Yao, J., & Gu, X. (2023). Impact of Heat Stress on Blood, Production, and Physiological Indicators in Heat-Tolerant and Heat-Sensitive Dairy Cows. *Animals*, 13(16), 2562. <https://doi.org/10.3390/ani13162562>
15. Lacetera, N., Bernabucci, U., Scalia, D., Basiricò, L., Morera, P., & Nardone, A. (2006). Heat Stress Elicits Different Responses in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Brown Swiss and Holstein Cows. *Journal of Dairy Science*, 89(12), 4606–4612. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(06\)72510-3](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(06)72510-3)
16. Mylostyvyi, R., Lesnovskay, O., Karlova, L., Khmeleva, O., Kalinichenko, O., Orishchuk, O., Tsap, S., Begma, N., Cherniy, N., Gutty, B., & Izhboldina, O. (2021). Brown Swiss cows are more heat resistant than Holstein cows under hot summer conditions of the continental climate of Ukraine. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 9(4), 1–8. DOI: <https://doi.org/10.31893/jabb.21034>
17. Lora, I., Calderone, C., Prussiani, L., Contiero, B., Malagoli, S., Lotto, A., & Cozzi, G. (2024). Reference limits for blood gas analysis performed from coccygeal vessels of multiparous Holstein dairy cows: Effects of stage of lactation and season of sampling. *Journal of Dairy Science*, 107(11), 9839–9846. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-24859>
18. Mylostyva, D., Prudnikov, V., Kolisnyk, O., Lykhach, A., Begma, N., Kalinichenko, O., Khmeleva, O., Sanzhara, R., Izhboldina, O., & Mylostyvyi, R. (2022). Biochemical changes during heat stress in productive animals with an emphasis on the antioxidant defense system. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 10(1), 2209. <https://doi.org/10.31893/jabb.22009>
19. Joo, S. S., Lee, S. J., Park, D. S., Kim, D. H., Gu, B.-H., Park, Y. J., Rim, C. Y., Kim, M., & Kim, E. T. (2021). Changes in Blood Metabolites and Immune Cells in Holstein and Jersey Dairy Cows by Heat Stress. *Animals*, 11(4), 974. <https://doi.org/10.3390/ani11040974>



20. Zachut, M., Kra, G., Nemes-Navon, N., Ben-Aharon, N., Moallem, U., Lavon, Y., & Jacoby, S. (2020). Seasonal heat load is more potent than the degree of body weight loss in dysregulating immune function by reducing white blood cell populations and increasing inflammation in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(11), 10809–10822. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18547>
21. Cartwright, S. L., McKechnie, M., Schmied, J., Livernois, A. M., & Mallard, B. A. (2021). Effect of in-vitro heat stress challenge on the function of blood mononuclear cells from dairy cattle ranked as high, average and low immune responders. *BMC Veterinary Research*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02940-8>
22. Livernois, A. M., Mallard, B. A., Cartwright, S. L., & Cánovas, A. (2021). Heat stress and immune response phenotype affect DNA methylation in blood mononuclear cells from Holstein dairy cows. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89951-5>
23. Scatà, M. C., Alhussien, M. N., Grandoni, F., Reale, A., Zampieri, M., Hussen, J., & De Matteis, G. (2024). Hyperthermia-induced changes in leukocyte survival and phagocytosis: a comparative study in bovine and buffalo leukocytes. *Frontiers in Veterinary Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1327148>
24. Abbas, Z., Sammad, A., Hu, L., Fang, H., Xu, Q., & Wang, Y. (2020). Glucose Metabolism and Dynamics of Facilitative Glucose Transporters (GLUTs) under the Influence of Heat Stress in Dairy Cattle. *Metabolites*, 10(8), 312. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo10080312>
25. Alberghina, D., Amato, A., Brancato, G., Cavallo, C., Liotta, L., & Lopreiato, V. (2024). Impact of Heat Stress on the Balance between Oxidative Markers and the Antioxidant Defence System in the Plasma of Mid-Lactating Modicana Dairy Cows. *Animals*, 14(14), 2034. <https://doi.org/10.3390/ani14142034>
26. Farafonov, S., Yaremko, O., Gutyj, B., Cherniy, N., Kozyr, V., Lykhach, A., Skliarov, P., Khmeleva, O., Mylostyva, D., & Mylostyvyi, R. (2024). Functional activity of blood neutrophils and immune status of heifers under the influence of probiotics. *Veterinarska Stanica*, 56(1), 29–38. <https://doi.org/10.46419/vs.56.1.8>
27. Mylostyvyi, R., & Izhboldina, O. (2025). An Integrated Approach Using Temperature–Humidity Index, Productivity, and Welfare Indicators for Herd-Level Heat Stress Assessment in Dairy Cows. *Animals*, 15(22), 3341. <https://doi.org/10.3390/ani15223341>
28. Minias, P. (2019). Evolution of heterophil/lymphocyte ratios in response to ecological and life-history traits: A comparative analysis across the avian tree of life. *Journal of Animal Ecology*, 88(4), 554–565. Portico. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12941>
29. Mylostyvyi, R., Sejian, V., Izhboldina, O., Sanzhara, R., Chernenko, Olena, Dochkin, D., & Hoffmann, G. (2026). Changes in leukocyte indices of Holstein cows under prolonged heat stress conditions. *Tropical Animal Health and Production*, 58(2). <https://doi.org/10.1007/s11250-026-04910-4>
30. Mylostyvyi, R., Lacetera, N., Amadori, M., Sejian, V., Souza-Junior, J. B. F., & Hoffmann, G. (2023). The autumn low milk yield syndrome in Brown Swiss cows in continental climates: hypotheses and facts. *Veterinary Research Communications*, 48(1), 203–213. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10203-0>
31. Hašková, V., Kašlík, J., Ríha, I., Matl, I., & Rovenský, J. (1978). Simple Method of Circulating Immune Complex Detection in Human Sera by Polyethylene Glycol Precipitation. *Zeitschrift Für Immunitätsforschung: Immunobiology*, 154(4), 399–406. [https://doi.org/10.1016/s0340-904x\(78\)80012-8](https://doi.org/10.1016/s0340-904x(78)80012-8)
32. Vlizlo, V.V., Fedorchuk R.S., Ratych I.B. et al. (2012). Laboratory methods of research in biology, animal husbandry and veterinary medicine: a handbook. Lviv. SPOLOM (in Ukrainian).
33. Alhussien, M. N., Hussen, J., & De Matteis, G. (2024). Editorial: Heat stress and immune responses in livestock: current challenges and intervention strategies. *Frontiers in Veterinary Science*, 11. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1366274>



34. Blond, B., Majkić, M., Spasojević, J., Hristov, S., Radinović, M., Nikolić, S., Anđušić, L., Čukić, A., Došenović Marinković, M., Vujanović, B. D., Obradović, N., & Cincović, M. (2024). Influence of Heat Stress on Body Surface Temperature and Blood Metabolic, Endocrine, and Inflammatory Parameters and Their Correlation in Cows. *Metabolites*, 14(2), 104. <https://doi.org/10.3390/metabo14020104>
35. Lemal, P., May, K., König, S., Schroyen, M., & Gengler, N. (2023). Invited review: From heat stress to disease—Immune response and candidate genes involved in cattle thermotolerance. *Journal of Dairy Science*, 106(7), 4471–4488. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22727>
36. Koch, F., Otten, W., Sauerwein, H., Reyer, H., & Kuhla, B. (2023). Mild heat stress–induced adaptive immune response in blood mononuclear cells and leukocytes from mesenteric lymph nodes of primiparous lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 106(4), 3008–3022. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22520>
37. Kim, W.-S., Nejad, J. G., Park, K.-K., & Lee, H.-G. (2023). Heat Stress Effects on Physiological and Blood Parameters, and Behavior in Early Fattening Stage of Beef Steers. *Animals*, 13(7), 1130. <https://doi.org/10.3390/ani13071130>
38. Barnes, T. L., Burrack, R. M., Schmidt, T. B., Petersen, J. L., & Yates, D. T. (2021). Sustained heat stress elevated corneal and body surface temperatures and altered circulating leukocytes and metabolic indicators in wether lambs supplemented with ractopamine or zilpaterol. *Journal of Animal Science*, 99(9). <https://doi.org/10.1093/jas/skab236>
39. Park, D. S., Gu, B.-H., Park, Y. J., Joo, S. S., Lee, S.-S., Kim, S.-H., Kim, E. T., Kim, D. H., Lee, S. S., Lee, S. J., Kim, B.-W., & Kim, M. (2021). Dynamic changes in blood immune cell composition and function in Holstein and Jersey steers in response to heat stress. *Cell Stress and Chaperones*, 26(4), 705–720. <https://doi.org/10.1007/s12192-021-01216-2>
40. Tejaswi, V., Balachander, B., Samad, H. A., Sarkar, M., Maurya, V. P., & Singh, G. (2020). Assessment of heat stress induced alterations in polymorphonuclear (PMN) cell activity in native and crossbred cows. *Journal of Applied Animal Research*, 48(1), 549–552. <https://doi.org/10.1080/09712119.2020.1829629>
41. Mayengbam, P., Upadhyay, R. C., Tolengkomba, T. C. (2021). Acute thermal exposure increases neutrophil-lymphocyte ratio of Sahiwal heifers. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 9(2), 240–243.
42. Das, P., Alex, R., Gowane, G. R., Vohra, V., Paul, D., Khan, K. D., Upadhyay, A., De, S., & Ludri, A. (2024). Chronic heat stress upregulates pyruvate metabolic process and gluconeogenesis but downregulates immune responses in Sahiwal cattle. *International Journal of Biometeorology*, 69(1), 195–208. <https://doi.org/10.1007/s00484-024-02804-4>

Стаття надійшла до редакції 15.07.2026

Стаття пройшла рецензування 16.08.2026

Стаття опублікована 30.09.2026

