

мутациями в генах, так и приобретением генных элементов, таких как плазмиды и бактериофаги, что способствует распространению устойчивых штаммов. Важной задачей является ограничение применения антибиотиков, внедрение альтернативных методов лечения, таких как пробиотики, пребиотики, растительные экстракты и бактериофаги, что поможет снизить развитие и распространение антибиотикорезистентных штаммов.

Литература.

1. Антибиотикорезистентность и возможные пути ее решения / И. А. Субботина, Л. В. Сыса, С. А. Сыса [и др.] // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии: мат. V-го Междунар. конгресса вет. фармак. и токсик., Санкт-Петербург, 22–24 мая 2019 года. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургская ГАВМ, 2019. С. 195–198.
2. Бочарова, К. А. Применение антибиотиков в сельском хозяйстве / К. А. Бочарова, Н. А. Бурцев, Е. В. Ачкасов // Биология и интегративная медицина. – 2021. – № 6 (53). – С. 14-16.
3. Маркова, К. Г. Современные подходы к выпуску бактериофагов - эффективных препаратов для преодоления антибиотикорезистентности бактерий / К. Г. Маркова, М. В. Коврижко, Т. И. Твердохлебова // Актуальные вопросы эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями на юге России. Ермольевские чтения : сб. мат. межрег. науч.-практ. конф., Ростов-на-Дону, 28–29 сентября 2023 года. – Ростов-на-Дону : Деловая литература, 2023. – С. 205-213.
4. Мурленков, Н. В. Проблемы и факторы развития антибиотикорезистентности в сельском хозяйстве / Н. В. Мурленков // Биология в сельском хозяйстве. – 2019. – № 4 (25). – С. 11-14.
5. Шульга, Н. Н. Антибиотики в животноводстве - пути решения проблемы / Н. Н. Шульга, И. С. Шульга, Л. П. Плавшак // Тенденции развития науки и образования. – 2018. – № 35 (4). – С. 52-55.

УДК 619:[616-07:637.12]:616.1.55.392:636.2

ПРОБЛЕМЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОЛОКА В ПЦР-ДИАГНОСТИКЕ ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Оголь А.С., Черных О.Ю., Лысенко А.А.

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени
И.Т.Трубилина», г. Краснодар, Российская Федерация

Поиск новых более эффективных методов диагностики вируса лейкоза у крупного рогатого скота идет во многих передовых странах мира. Важность исследования обусловлена опасностью данного заболевания для человека. И если способы диагностики провируса в крови

достаточно отработаны, то определение возбудителя в молоке требует дальнейших исследований и широко не используется, несмотря на очевидные преимущества. Нами показана перспективность подобных исследований и недостатки, которые мешают массовому проведению подобных исследований, связанных со сложностью подготовки проб молока для ПЦР-диагностики. **Ключевые слова:** вирус лейкоза, кровь, молоко, ПЦР-диагностика, пробы, подготовка, центрифугирование, охлаждение

PROBLEMS OF USING MILK IN PCR DIAGNOSTICS OF CATTLE LEUKEMIA VIRUS.

Ogol A.S., Chernykh O.Yu., Lysenko A.A.

Kuban State Agrarian University named after I.T. Trubilin, Krasnodar,
Russian Federation

*The search for new, more effective methods for diagnosing the leukemia virus in cattle is underway in many advanced countries of the world. The importance of the study is due to the danger of this disease for humans. And if the methods for diagnosing a provirus in the blood have been sufficiently developed, then determining the pathogen in milk requires further research and is not widely used. Despite the obvious advantages, we have shown the promise of such studies and the disadvantages that prevent the mass implementation of such studies, associated with the complexity of preparing milk samples for PCR diagnostics. **Keywords:** leukemia virus, blood, milk, PCR diagnostics, samples, preparation, centrifugation, cooling*

Введение. Инфекция, обусловленная вирусом лейкоза крупного рогатого скота (BLV), широко распространена среди поголовья крупного рогатого скота и продолжает рассматриваться как одна из наиболее значимых вирусных патологий молочного скотоводства во многих странах мира [1,2]. Для данного заболевания характерно длительное хроническое течение с персистенцией возбудителя в организме животного.

Вместе с тем в последние годы всё более широкое распространение получают методы молекулярной диагностики. Прежде всего, это полимеразная цепная реакция, направленная на выявление провирусной ДНК вируса, интегрированной в геном клеток организма-хозяина [1]. Использование ПЦР позволяет значительно повысить чувствительность и специфичность лабораторных исследований и обеспечивает возможность обнаружения инфицированных животных на ранних этапах инфекционного процесса [2].

Наиболее распространённым материалом для молекулярной диагностики служит периферическая кровь, содержащая инфицированные лимфоциты [3]. Однако в последние годы исследователи проявляют возрастающий интерес к альтернативным биологическим субстратам. В

качестве одного из таких материалов рассматривается молоко, в составе которого присутствуют соматические клетки — лимфоциты, макрофаги и эпителиальные клетки молочной железы [2].

Использование молока для диагностики имеет ряд практических преимуществ. Отбор проб может проводиться непосредственно в процессе доения без дополнительных манипуляций с животным.

Особую значимость данный подход приобретает на крупных молочных комплексах, где численность поголовья может достигать нескольких тысяч животных, а объёмы ежедневно получаемого молока исчисляются десятками и сотнями тонн. В таких условиях проведение индивидуального отбора крови у всего стада является трудоёмкой и экономически затратной процедурой [3].

В связи с этим при работе с молоком важное значение приобретают методы концентрирования клеточного материала, позволяющие повысить вероятность обнаружения провирусной ДНК вируса лейкоза. Это и обусловило проведение данного исследования.

Целью исследования являлось изучение методических подходов, направленных на повышение эффективности молекулярной диагностики вируса лейкоза крупного рогатого скота при использовании молока в качестве биологического материала.

Материалы и методы исследований. Основное внимание уделялось методам концентрирования клеточного материала из значительных объёмов молока, характерных для современных молочных комплексов.

Для исследования пригодны к использованию как индивидуальные, так и сборные образцы молока. Объём проб должен составлять 10–20 мл при индивидуальном исследовании и от 100 до 500 мл при анализе сборных образцов.

Наиболее доступным методом первичной подготовки проб является центрифугирование молока. Данные пробы содержат соматические клетки молока, представленные лимфоцитами, макрофагами и эпителиальными клетками молочной железы. Поскольку провирусная ДНК вируса лейкоза интегрирована в геном инфицированных лимфоцитов, именно эти клетки представляют основной диагностический интерес при проведении молекулярных исследований [2].

Результаты исследований. Жировая фракция образует устойчивые эмульсионные структуры, которые могут затруднять процесс лизиса клеток и последующее выделение нуклеиновых кислот. Казеиновые комплексы способны связывать молекулы ДНК, что снижает эффективность амплификации. Кроме того, присутствующие в молоке протеолитические ферменты могут частично инактивировать ферменты ПЦР [2].

Дополнительную проблему представляет сравнительно низкая концентрация инфицированных клеток. Провирусная ДНК вируса лейкоза локализуется преимущественно в В-лимфоцитах, количество которых в молоке значительно ниже, чем в периферической крови. По этой причине

вероятность обнаружения инфицированных клеток при исследовании небольших объёмов молока может быть ограниченной.

Существенное влияние на результаты лабораторной диагностики оказывает использование сборных проб молока на крупных молочных комплексах. Полученный генетический материал может анализироваться методом количественной полимеразной цепной реакции, включая Real-time PCR, что позволяет выявлять минимальные количества провирусной ДНК и оценивать уровень провирусной нагрузки.

Заключение. Молоко может рассматриваться как перспективный диагностический материал для выявления инфекции, вызываемой вирусом лейкоза крупного рогатого скота, особенно в условиях промышленного молочного производства.

В то же время использование молока в ПЦР-диагностике имеет ряд ограничений, обусловленных присутствием ингибиторов амплификации, низкой концентрацией инфицированных клеток и разбавлением диагностического материала при анализе сборных проб.

Применение методов концентрирования клеточного материала из значительных объёмов молока, включая центрифугирование, фильтрацию и иммуномагнитное выделение клеток, позволяет повысить чувствительность молекулярной диагностики.

Литература.

1. Гулюкин, М. И. Мониторинг эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в хозяйствах Российской Федерации / М. И. Гулюкин, И. И. Барабанов, Л. А. Иванова // Ветеринария и кормление. - 2016. - № 4. - С. 5–41.
2. Донник, И. М. Ограничения эффективности ПЦР-диагностики вируса лейкоза крупного рогатого скота в условиях реального эпизоотического процесса / И. М. Донник, М. В. Петропавловский, А. С. Бадретдинова // Аграрный вестник Урала. - 2025. - Т. 25. - № 10. - С. 1665–1671.
3. Мустафаев, А. Р. Применение иммуноферментного анализа в послеубойной диагностике лейкоза крупного рогатого скота / А. Р. Мустафаев, М. О. Баратов // Ветеринария сегодня. - 2024. - Т. 13. - № 2. - С. 149–153.