РЕТРОВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ КРС, ИХ ВЗАИМООБУСЛОВЛЕННОСТЬ И ВЛИЯНИЕ НА КАЧЕСТВО КОРОВЬЕГО МОЛОКА

О.С. Ларионова, доктор биологических наук, доцент E.С. Красникова, кандидат биологических наук, доцент ФГБОУ ВПО «Саратовский ГАУ» 8(8452)692532, rector@sgau.ru

Ключевые слова: вирусный иммунодефицит, энзоотический лейкоз, крупный рогатый скот, ретровирусная микстинфекция, полимеразная цепная реакция, реакция иммунодиффузии, молоко.

Статья посвящена выяснению частоты выявления и взаимообусловленности вирусного иммунодефицита и энзоотического лейкоза крупного рогатого скота, а также определению качества молока, полученного от коров, инфицированных данными ретровирусами.

Семейство Retroviridae включает два патогенных для крупного рогатого скота (КРС) вируса: Bovine immunodeficiency virus (BIV) и Bovine leukemia virus (BLV). Ретровирусные инфекции КРС широко распространены в мире. В эндемичных регионах инфицированность животных ретровирусами стремиться к 100% [1, 2].

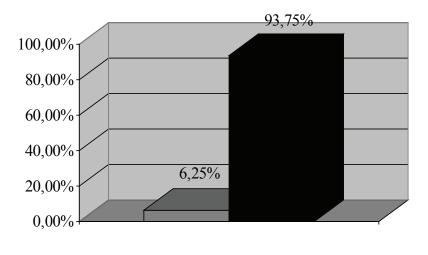
Вирус иммунодефицита действует как иммуносупрессор, снижая устойчивость животных к другим инфекциям и инвазиям, так как поражает центральное звено иммунной системы — Т-хелперы. Вирус лейкоза также угнетает иммунную систему, так как паразитирует в мононуклеарах крови, поражая преимущественно В-лимфоциты. В результате резко снижаются адаптивные возможности организма, специфическая и неспецифическая резистентности, что неизбежно приводит к развитию патологического процесса [1, 3].

Распространение ретровирусных инфекций среди скота приводит к значительному экономическому ущербу, складывающемуся из снижения количества и качества молочной и мясной продукции, падежа или вынужденного убоя животных, недополучения молодняка, а также потери его племенной ценности и ограничения в реализации, затрат на проведение противозпизоотических мероприятий и обеззараживание молока. Например, потери в молочной промышленности от энзоотического лейкоза (ЭЛ) в США в 2003 году срставили 525 миллионов долларов. Что касается отечественного животноводства, стоимость одной головы высокопродуктивного племенного скота, например голштино-фриз-

ской породы, составляет около 130 тыс. руб. В связи с увеличением курса евро, стоимость телки, завозимой из зарубежных стран, в ряде случаев превышает 270 тыс. рублей. В настоящее время хозяйства Российской Федерации теряют в первый год эксплуатации от 8 до 35% поголовья скота, купленного за рубежом, в том числе 3-4% животных выбраковываются по причине выявления у них лейкоза [3, 4].

Среднесуточный удой племенной коровы составляет 28 л молока в день. Если взять среднюю стоимость молока 20 руб./литр, то ущерб от недополучения продукции составит примерно 170 тыс. руб./год. В сумму ущерба так же нужно включить и стоимость недополучения телят при выбраковке коров репродуктивного возраста. У инфицированного лейкозом скота удои и выход мяса уменьшаются на 5,5-12,7%. Кроме того, в молоке снижается содержание жира, общего белка и большинства аминокислот, накапливаются продукты распада белков. В случае выявления лейкоза у полновозрастных высокопродуктивных коров, их приходится выводить из товарного производства, заменяя их нетелями, которые еще не имеют высоких надоев. При этом валовое производство молока на сельхозпредприятии снижается примерно на 6%. Экономический ущерб из-за снижения молочной продуктивности составляет в среднем 2,5 тыс. рублей на одну инфицированную корову. Общий экономический ущерб от лейкоза только в одном племенном хозяйстве может достигать более 10 млн. рублей в год [4].

Наиболее часто ретровирусы поражают высокопродуктивных молочных коров. Среди



■ ПЦР-отрицательные ■ ПЦР-положительные

Рисунок 1 - Результаты ПЦР-исследования РИД-положительного КРС

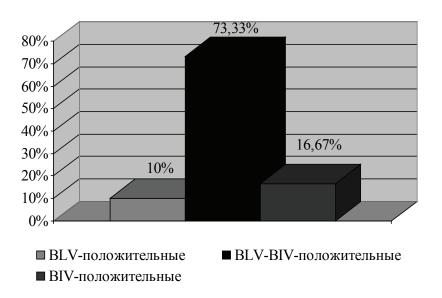


Рисунок 2 - Результаты ПЦР-исследования носителей ретровирусов среди КРС

исследователей нет однозначного мнения о безопасности продуктов питания, полученных от животных, инфицированных вирусами лейкоза и иммунодефицита. Доказана возможность инфицирования клеток человека *BLV*. Молоко от клинически больных лейкозом коров запрещено для питания, молоко от носителей нельзя давать детям, оно разрешено к переработке только после обеззараживания [2, 3].

В настоящее время, для диагностики вирусного иммунодефицита (ВИ) КРС в РФ не существует сертифицированных тест-систем и официально утвержденных инструкций. Согласно утвержденным правилам, при выявлении *BLV*-инфицированных животных регламентированными являются реакция иммунодиффузии

(РИД) и гематологические исследования. В то же время они не являются абсолютными методами прижизненной диагностики гемобластозов КРС [4, 5].

Целью наших исследований явилось выявление взаимообусловленности при ЭЛ и ВИ КРС, а также установление влияния ретровирусных инфекций на качество коровьего молока.

Для достижения цели нами были поставлены следующие **задачи**:

- выяснить уровень инфицирования КРС вирусами иммунодефицита и лейкоза;
- установить степень микстинфицирования животных обоими ретровирусами;
- дать оценку качества молока, полученного от коров при ретровирусных инфекциях;

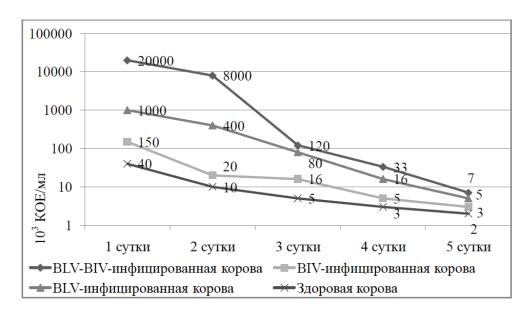


Рисунок 3 - Определение КМАФАНМ в сыром молоке.

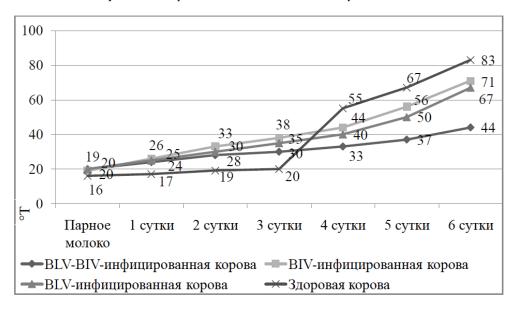


Рисунок 4 - Определение кислотности сырого молока при хранении 4ºС

- сравнить динамику изменения белкового состава молока, полученного от коров, инфицированных ретровирусами.

Материал и методы. Материалом для исследования явились 32 пробы периферической крови от коров из села Озерное Саратовской области, которые по результатам РИД были признаны инфицированными *BLV*, а также молоко кров, инфицированных ретровирусами.

Исследование крови КРС на носительство вируса лейкоза и иммунодефицита осуществляли методом ПЦР с использованием набора «Лейкоз» (ИнтерЛабСервис, Россия) и по оригинальной методике (Колотвин В.В.).

Молоко исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предварительной пробоподготовкой на 1, 3 и 6 день хранения при +4°. Исследования выполнялись на системе жидкостной хроматографии «Стайер-Аквилон» с УФ детектором, снабженным колонкой Phenomenex BioSep-SEC-S2000 с размером пор 145 Å, 300х7,80 мм. Детектирование проводили при длине волны 214 нм, в качестве подвижной фазы использовали раствор содержащий 0,025% азида натрия и 0,1 м фосфатносолевого буфера с скоростью потока 2 мл/мин. Исследования проводили на базе центра коллективного пользования лаборатории «Молекулярно-биологических исследований». Цельное молоко в объеме 10 мл центрифу-

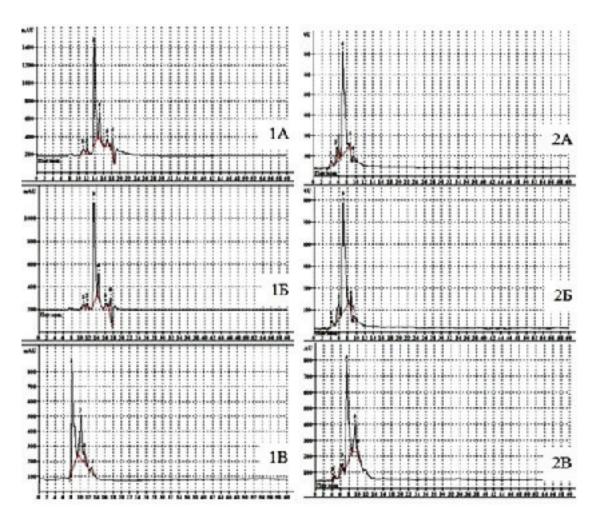


Рисунок 5 - Хроматограмма белков молока BIV-инфицированной (1) и BIV-BLV-инфицированной (2) коров на 1ый (A), Зий (Б) и 6ой (В) дни хранения при +4°С.

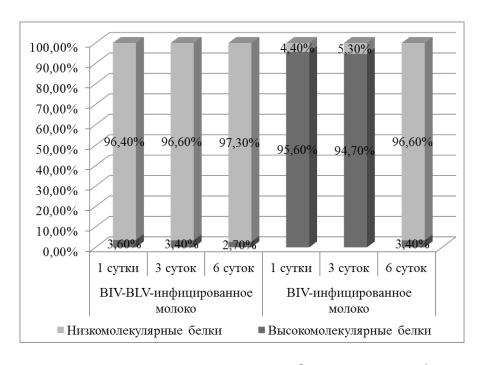


Рисунок 6 - Соотношение высоко- и низкомолекулярных белков в молоке инфицированных коров

гировали на 10 тыс. об/мин при температуре +5С° 30 мин. Отделяли верхнюю фракцию липидов и осадок. Затем в обезжиренное молоко при 37°С по каплям, при постоянном перемешивании, вносили соляную кислоту до достижения рН 4,5, далее продолжали перемешивание на протяжении 30 минут. Полученный раствор центрифугировали на 5 тыс. об/мин при температуре +25°С на протяжении 10 минут, отделяли надосадочную фракцию и 1 М раствором натрия рН осадка доводили до 6,5.

Также в день получения молока определяли его органолептические, физико-химические показатели. Микробиологические исследования и изучение кислотности молока проводили в динамике. Работу выполняли на базе учебно-научно-испытательной лаборатории по определению качества пищевой и с.-х. продукции и в лаборатории кафедры «Микробиология, биотехнология и химия» по стандартным методикам.

Результаты исследований. Результаты ПЦРанализа представлены на рисунках 1 и 2.

Как показано на рис. 1, 6,25% РИДпозитивных животных не являются носителями ретровирусов, в том числе возбудителя ЭЛ КРС. Рис.2 иллюстрирует, что среди РИДположительных вирусносителей выявляют как животных, инфицированных ВИ (16,67%), так и вирусом ЭЛ КРС (10%), но большинство животных (73,33%) являются носителями одновременно двух ретровирусов. Наши данные коррелируют с литературными сведениями, о том, что BIV-**BLV**-микстинфицирование часто обнаруживается у КРС [2]. Роль ВИ в патологии зачастую позиционируется авторами как неопределенная. Мы можем предположить, что распространение ВИ среди КРС предрасполагает к заражению BLV и, следовательно, способствует росту инфицированности животных вирусом ЭЛ КРС.

По органолептическим и физико-химическим показателям молоко инфицированных коров почти не отличалось от молока здоровой и находилось в пределах нормы. Но в молоке здоровой коровы не обнаруживалась кишечная палочка, в отличие от молока инфицированных коров. Изменение кислотности и бактериальной обсемененности проб молока в динамике представлены на рисунках 3 и 4.

Как показано на рис. З и 4, молоко от микстинфицированной коровы скисало медленнее, при этом в нем обнаруживалось огромное количество секундарной микрофлоры, значительно превышающее предельно допустимые нормы для сырого коровьего молока. То есть, конкурентное действие секундарной микрофлоры приводило не

к скисанию молока, а к развитию в нем гнилостных процессов. У молока *BIV*- и *BLV*-инфицированных коров значительно снижалось время бактерицидной фазы молока, и оно начинало скисать уже на первые сутки хранения в холодильнике, тогда как молоко здоровой коровы с течение 3 суток сохраняло кислотность в пределах нормы, а затем быстро превращалось в простоквашу.

Данные исследования белкового состава молока представлены на рисунках 5 и 6.

Как показано на рис. 5 - 6, в молоке латентно инфицированной вирусом иммунодефицита коровы на 3 день еще обнаруживались высокомолекулярные белки (иммуноглобулины, казеин) в достаточно большом количестве, к 6 дню в нем уже преобладали низкомолекулярные белки – продукты микробной ферментации молока. В молоке коровы микстинфицированной вирусами иммунодефицита и лейкоза уже на первый день количество низкомолекулярных белков было высоким, а полноценные молочные белки в нем практически отсутствовали. И со временем картина усугублялась. Известно, что микробы ферментируют не только белки, но отдельные аминокислоты молока, в том числе серо-, азотсодержащие и циклические, что приводит к образованию токсичных для человека веществ (H₂S, NH₂, фенолы).

Выводы:

- 1. Микстинфекция *BIV-BLV* была выявлена у 73,33% исследованных коров, тогда как в моноинфекции *BIV* выявлялся у 16,67%, а *BLV-* у 10% животных.
- 2. По результатам санитарно-микробиологического исследования в пробе молока от микстинфицированной коровы была выделена культура кишечной палочки, наблюдалось недопустимое увеличение показателя КМАФАНМ.
- 3. BIV и BLV-инфицирование способствуют снижению бактерицидных свойств молока, что приводит к постепенному скисанию молока уже на первые сутки, BIV и BLV микстинфекция приводит к развитию в молоке гнилостных процессов.
- 4. Молоко латентно инфицированной ВИ коровы в течение первых трех дней хранения в холодильнике сохраняет достаточно стабильный белковый состав, а молоко при ВIV-BLV-микстинфекции уже на первые сутки имеет признаки деградации белков, что значительно снижает его пищевую ценность и способствует накоплению в нем токсичных для человека веществ.

Библиографический список:

- 1. Ларионова О.С., Красников А.В., Утанова Г.Х. Анализ инфицированности крупного рогатого скота ретровирусными инфекциями в саратовской области//Аграрный научный журнал. №2/2015. С. 17-19.
- 2. Brujeni GN, Poorbazargani TT, Nadin-Davis S, Tolooie M, Barjesteh N.J Bovine immunodeficiency virus and bovine leukemia virus and their mixed infection in Iranian Holstein cattle//Infect Dev Ctries. 2010 Oct 4;4(9):576-9.
- 3. Галеев Р.Ф., Хусаинов Р.Ф. Лейкоз крупного рогатого скота. Уфа: Издательство «Новый стиль». 2009г. 220 с.
- 4. Воробьев А.Л., Антюхов В.М. Лейкоз КРС: диагностика и проблемы оздоровления//Передовые технологии: Ветеринарная медицина http://borona.net/hight-technologies/veterinary/Lejkoz_KRS_diagnostika_i_problemy_ozdorovlenija.html
- 5. Красникова Е.С., Агольцов В.А., Мелкина П.С. Диагностическая оценка серологического и молекулярногенетического методов лабораторных исследований на ретровирусные инфекции крупного рогатого скота//Ветеринарная патология. Вып. 45, №3/2013. С. 23-29.

CATTLE'S RETROVIRAL INFECTION, THEIR INTERDEPENDENCE AND INFLUENCE ON THE QUALITY OF COW'S MILK

O.S. Larionova, E.S. Krasnikova

Keywords: viral immunodeficiency, enzootic leukemia, cattle, retroviral mixed infection, polymerase chain reaction, immunodiffusion reaction, milk.

Article is devoted to identifying the incidence and interdependence of viral immunodeficiency and enzootic bovine leukemia, as well as the definition of quality milk from cows infected with the retroviruses.

УДК 578:579.672

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ, ЗООТЕХНИЧЕСКАЯ И ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНЫ БАЙОВАК® МИКО ПРОТИВ ЭНЗООТИЧЕСКОЙ ПНЕВМОНИИ (ЭП) СВИНЕЙ

Доктор Антонио Муноз Луно профессор Доктор Франциско Жозе Палларес Мартинез, профессор Доктор Гильермо Рамис Видал, профессор Университет Мурсии, Испания

Ключевые слова: М. Hyopneumonia, вакцина, энзоотическая пневмония, эффективность

В статье приведены результаты оценки влияния вакцины Байовак® Мико (компания Байер) против М. Нуорпеитопіа на патологические изменения, характерные для ЭП, а также оценка зоотехнической и экономической целесообразность её применения.

Место проведения исследования: Откормочное хозяйство «Juan Jimenez, S. A.» Лорка, Мурсия, Испания.

Бойня, где проводилось исследования легких «Grupo Alimentario de Lorca, S. A.» Лорка, Мурсия, Испания.