
оптимизации (А) и после оптимизации (Б)

Полученные результаты позволили сделать следующие выводы по оптимизации амплификации кДНК гена НА вируса гриппа птиц: реверсию целесообразно проводить с ревертазой SuperScript III Reverse Transkriptase (“Invitrogen”, США), со свежими фосфатами (не более 1-2 циклов разморозки-заморозки); введение этапа лигирования (оптимальный режим лигирования 37^oC 1 час) и использование в ПЦР Pfu- полимеразы повышает выход специфического продукта реакции; необходимо использовать только свежие пробы или однократно размораживаемые аликвоты с -20^oC. Хранение проб при +4^oC приводит к разрушению длинных сегментов вирусной РНК и, как следствие, к существенному снижению эффективности амплификации специфического фрагмента.

Заключение

В ходе работы получены кДНК четырёх генов, кодирующих белки вируса гриппа птиц: гемагглютини́на, нуклеопротеина, матричного белка 1, матричного белка 2, определена их первичная последовательность. Проведена оптимизация получения кДНК крупного фрагмента генома ВГП, кодирующего гемагглютинин. Полученные кДНК могут быть использованы в дальнейшем для генно-инженерных работ по получению рекомбинантной вакцины против ВГП.

Литература:

1. Щелкунов С. Н. Генетическая инженерия. Новосибирск, 2004. 496 с.
2. Maniatis T., Fritsch E.F., and Sambrooks S. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. N.Y.: Cold Spring Harbor, 2006. 800 p.
3. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. V. 1. 6th ed. Paris, 2008. P. 465 – 481.
4. Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro / Rychlik W., Spencer W. J., Rhoads R. E. // Nucleic Acids Res. 1990. V. 18, № 2. P. 6409 – 6412.
5. Pathogenicity and diagnosis of H5N2 Mexican avian influenza viruses in chickens / Swayne D. E., Perdue M. L., Garcia M., Rivera-Cruz E., [et al.] // Avian Dis. 1997. V. 41, № 2. P. 335 – 346.

УДК: 619:617.002.3+619:612.1+577.118

**МАКРОЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ И ПОКАЗАТЕЛИ
АЗОТНОГО ОБМЕНА ПРИ ГНОЙНЫХ РАНАХ
MACRO ELEMENTS OF BLOOD AND PARAMETERS
OF A NITRIC EXCHANGE AT PURULENT WOUNDS**

*Ермолаев В.А. , Ляшенко П.М., Никулина Е.Н.
Ermolaev V.A. , Lyashenko P.M. , Nikulina E.N.
Ульяновская ГСХА
Ulianovsk state agricultural academy*

As a result of the lead experiment the data on a nitric exchange and some macro elements of plasma of blood have been received at purulent wounds from cows. Parameters of blood changed in conformity with stages process wound. The analysis of the received data testifies about positive dynamics of blood.

Травматизм занимает одно из ведущих мест в животноводстве, в результате которого часто возникают случайные инфицированные раны. Гнойные раны у животных занимают 40-50% среди хирургической патологии (Шакалов К.И., 1981; Виденин В.Н. с соавт., 1998; и др.), лечение их является актуальной проблемой в ветеринарии.

Непрерывную связь между органами и тканями в организме животного осуществляет кровь. В результате возникновения различных патологий в организме животного биохимический состав крови меняется. Биохимические исследования крови применяют для постановки диагноза, контроля за назначенным лечением и течением болезни.

Целью нашего исследования явилось изучение динамики биохимических показателей плазмы крови, в частности некоторых макроэлементов, мочевины и мочевой кислоты у телят при гнойных кожно-мышечных ранах.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили на телятах черно-пёстрой породы в возрасте 12 месяцев, весом 200-220 кг. Животные были разделены на две группы по пять голов. Всем экспериментальным животным наносили кожно-мышечные раны с латеральной стороны бедра, размером 8 см длиной и 2,0 см глубиной. Инфицирование раны делали путём фиксации провизорными швами тампона смоченного суточной микробной взвесью *Enterococcus faecalis* (1 мл взвеси 1 млрд. микробных клеток). Заживление ран проходило по вторичному натяжению.

Лечение ран совершали через сутки после инфицирования. У животных проводили туалет ран, затем смазывали раневую поверхность соответствующей эксперименту мазью: в опытной группе – Гипофаевип, в контрольной – Левомиколь.

Для биохимических исследований кровь брали из яремной вены со средней трети шеи – до нанесения ран (фоновые показатели), на 1, 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19, 23 сутки и в день полного выздоровления. Анализы крови выполняли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BioChem. В качестве реактивов для определения биохимических показателей крови использовали наборы фирмы «Витал Диагностика СПб». Полученный цифровой материал подвергался статистической обработке с помощью программы «Statistika 6».

Результаты исследования. Уровень мочевины в крови не превышал показателей нормы за весь период лечения животных, среднее значение в группах равнялось 2,37 ммоль/л. Через час после нанесения раны повышение в опытной группе составило 14,1%, а в контрольной этот показатель снизился на 5,7%. На первые сутки лечения уровень мочевины повысился в опытной и контрольной группах на 38,5% ($P < 0,05$) и 39,8% соответственно. С третьих суток уровень мочевины понижался на девятые сутки, составив превышение по сравнению с нормой на 19,1% в опытной группе и на 16,2% в контрольной. К концу лечения уровень мочевины был незначительно повышен в опытной группе на 4%. В контрольной группе это значение было ниже фона на 2,3%.

Значение мочевой кислоты в плазме в среднем по группам составило 51,8

ммоль/л. В первые сутки лечения превышение фоновых показателей на 2,5% ($P<0,05$) в опытной и на 114% в контрольной группе. Уровень мочевой кислоты в опытной группе постепенно возрастал, достигнув максимума на одиннадцатые сутки, что было выше фона на 95,6% ($P<0,05$), затем значение мочевой кислоты стало понижаться. К концу лечения показатели мочевой кислоты в этой группе были ниже фона на 18,5%. В контрольной группе максимум мочевой кислоты наблюдался на шестые сутки, составив повышение по сравнению с фоном на 241,7%. Затем уровень мочевой кислоты в крови незначительно изменился, на момент выздоровления, составив на 17% выше фоновых показателей.

Уровень кальция в крови через час после нанесения раны снизился на 23,9% и 3,61% в опытно и контрольной группе соответственно. На первые сутки лечения уровень кальция в крови составил 27,2% и 8% ниже фоновых показателей. В опытной группе количество кальция постепенно увеличилось, а к концу лечения было выше фона на 12,3%. В контрольной группе уровень кальция вначале повышался до шестых суток, на 15 сутки снизился, достигнув минимума 31,1% ($P<0,05$) ниже фона. К концу лечения в контрольной группе кальций был выше фона на 2,2%.

Количество неорганического фосфора в плазме крови в среднем по группам составило 2,19 ммоль/л. Через час после нанесения раны количество фосфора увеличилось в 3,3 раза по сравнению с фоновыми показателями. На первые сутки лечения увеличение составило в 3 и 3,2 раза в опытной и контрольной группах соответственно. Постепенно в процессе заживления ран количество фосфора стало уменьшаться в обеих группах, но в опытной группе эти показания уменьшались быстрее и были ниже.

Среднее значение калия в плазме по группам составило 6,4 ммоль/л, при норме 4,0-5,8 ммоль/л. Через час после нанесения раны калий понизился на 26,8% ($P<0,05$) и 21,3% ($P<0,05$) в опытной и контрольной группах соответственно. В опытной группе на первые сутки лечения уровень калия начал подниматься и в приблизился к фоновым показателям, а в контрольной это значение было ниже на 10,2%. На третьи сутки наблюдался подъем уровня калия на 26,8% ($P<0,05$) в опытной и 21,3% ($P<0,05$) в контрольной группах по сравнению с фоном. К концу лечения количество калия было ниже фона на 32,3% ($P<0,05$) и 27,6% ($P<0,05$) в опытной и контрольной группах соответственно.

Обсуждение полученных результатов. Увеличение или уменьшение мочевины и мочевой кислоты обычно отражает почечную недостаточность, а при внепочечной недостаточности, как результат избыточного поступления азотсодержащих веществ в кровь, вследствие усиленного распада тканевых белков. В гнойных ранах при некрозе кожно-мышечных тканей, почки не справляются с выведением избытка образующихся продуктов распада (Зайцев С.Ю., 2005). В нашем случае мочевины и мочевой кислоты в плазме отразился в повышении, что видно из полученных данных, когда уровень мочевины был повышен по сравнению с фоновыми показателями на первые и третьи сутки в обеих группах. Количество мочевой кислоты в опытной группе стало стабильно снижаться после одиннадцатого дня лечения, а в контрольной группе после 15 суток. Так как процесс воспаления был острый, то уровень повышения мочевины и мочевой кислоты был кратковременный, так к концу лечения показатели мочевины и мочевой кислоты приближались к фоновым значениям.

Повреждение целостности кожи вызывает нарушение микроциркуляции,

расстройства трофики, наличие тромбов в патологическом очаге. Эти изменения сопровождаются глубокими биохимическими сдвигами, зависящими от интенсивности раздражений. Сюда следует отнести: питание тканей, местный ацидоз, нарушение ионного равновесия, напряжение ферментативных реакций, экссудацию. При нарушении ионного равновесия наблюдается увеличение ионов калия по отношению к ионам кальция не только в зоне воспаления, но в крови и в лимфе (Поваженко И.Е., Братюха С.И., 1971). Существует определенная зависимость между тяжестью воспалительных явлений, концентрацией Н-ионов и содержанием калия. Поэтому первоначально при раневом процессе происходит увеличение калия в плазме крови, что наблюдалось в эксперименте – это повышение уровня калия на первые и третьи сутки лечения, затем количество калия в плазме приближалось к фоновым показателям. Уровень же кальция в крови вначале уменьшился из-за повышения уровня калия и фосфора, в результате нарушения ионного равновесия и вследствие кровотечения при нанесении ран и незначительных кровопотерях при ежедневной хирургической обработке, затем к концу лечения количество кальция восстановилось с фоновыми показателями.

Тканевой обмен веществ в очаге воспаления значительно изменяется количественно и качественно, что влечёт за собой физико-химические сдвиги в тканях, которые в свою очередь оказывают влияние на биохимический состав крови. В результате нарушенного обмена веществ накапливается ряд органических веществ – продуктов распада тканей (альбумозы, продукты распада белкового обмена, ряд ферментов, органические кислоты и др.), проникающие через стенки сосудов и циркулирующие в кровеносной системе, которые нейтрализуются и выводятся из организма. В крови фосфор находится в виде органических и неорганических соединений. Главным «депо» органических фосфорных соединений являются мышечная и костная ткани, поэтому при повреждении тканей в зоне патологического очага происходит накопление множества продуктов тканевого обмена и распада тканевых белков – это в основном азотсодержащие и фосфорорганические соединения, которые проникают в кровеносные и лимфатические сосуды, в результате чего происходит увеличение фосфора в плазме крови (Хазипов Н.З., 2001). Вследствие этого уровень фосфора в опытной и контрольной группе повысился в первые дни лечения в 3 раза, а затем уменьшился, но в опытной группе быстрее.

Выводы. Изучение динамики мочевины, мочевой кислоты и макроэлементов плазмы крови у животных с гнойными кожно-мышечными ранами в эксперименте показало, что в опытной группе описанные выше показатели нормализовались быстрее, по сравнению с контрольной.

Литература:

1. Виденин, В.Н. Влияние этиона и катапола на заживление экспериментальных и инфицированных ран у крупного рогатого скота / В.Н. Виденин, Б.С. Семенов, В.А. Антонова, В.И. Соколов // Хирургическая патология животных: Сб. науч. тр. – М., 1998. – С. 79-81.

2. Зайцев, С.Ю. Биохимия животных. Фундаментальные и клинические аспекты / С.Ю. Зайцев, Ю.В. Коноватов // 2-е изд. испр. и доп. – СПб: Лань, 2005. – 384 с.

3. Поваженко, И.Е., Братюха, С.И. Общая ветеринарная хирургия / И.Е.