

УРАЛЬСКОМУ

85

НИВИ

В

ВОПРОСЫ
НОРМАТИВНО-ПРАВОВОГО
РЕГУЛИРОВАНИЯ
В ВЕТЕРИНАРИИ

№ 2 - 2015

ISSN (2072-6023)

Международная научно-практическая конференция
«ИННОВАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К
РЕШЕНИЮ СОВРЕМЕННЫХ
ПРОБЛЕМ ВЕТЕРИНАРНОЙ
МЕДИЦИНЫ»

Инфекционные и инвазионные болезни животных	19
Незаразные болезни животных	93
Проблемы репродукции животных	183
Эколого-биологические проблемы современного животноводства	269

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ ИНФОРМАЦИОННО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

венирование по Сенгеру.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наиболее интересные для исследования гены-кандидаты (vif, tat, pol, gag) использованы для создания молекулярных клонов на основе рекомбинантных конструкций. Для достижения поставленной цели проведен анализ плазмид, необходимых для наработки в препаративных концентрациях определенных генов ЛМЖ, изучены их рестрикционные карты для подбора оптимальных рестриктаз. При проведении данной работы выбраны плазмиды pGEM и pTZ57R с T7 промоутером и выбрана плазида, в которой будет проходить дальнейшая экспрессия синтетических белков – pEGFP-N1. В качестве рестриктаз, сайты которых не было найдено в изучаемых генах, но входили в мультиклонировочный сайт выбранных плазмид, выбраны AfeI, KpnI, Sall, XhoI, Acc65I, BglI. Все прямые праймеры включали старт кодоны. Для каждого из генов обратные праймеры содержали в своем составе стоп-кодон (для получения чистого синтетического белка).

Специфические ПЦР-продукты амплифицировали на приборе PalmCycler (CorbettResearch, Австралия) со следующим температурным режимом: денатурация 94 °С – 2 мин, 35 циклов: 94 °С – 30 с, 50 °С – 60 с, 68 °С – 2 мин и заключительной элонгацией при 68 °С – 5 мин. Что соответствует инструкции по применению полимеразы OneTaqHotStartDNA (NEB, США).

После проведения электрофореза ПЦР-продукт очищали от агарозного геля с помощью SilicaSpin колонок (Qiagen, Германия). Реакцию лигирования проводили в области мультиклонировочного сайта с использованием 5 ед. акт. T4 ДНК-лигазы. Трансфекцию осуществляли в клетки *E.coli* штамма DH5α (Promega, США) методом термошока. В результате скрининга нами были получены рекомбинантные плазмиды со встроенными vif-, tat-, pol-, gag-генами.

Для последующего анализа первичной последовательности амплифицируемых ПЦР-продуктов использовали реакцию рестрикции по заданным сайтам и метод нуклеотидного секвенирования.

Создана библиотека клонов

ВЫВОДЫ

После проведения нуклеотидного секвенирования всех полученных рекомбинантных клонов

и анализа полученных последовательностей выявлено наличие варибельности не только внутри отдельных представителей одного вида вирусного агента, но и среди рекомбинантных клонов, полученных от одного штамма возбудителя висна-маеди. При этом значительное количество нуклеотидных замен является не синонимичными. Тем не менее, при изучении профилей гидрофобности и сравнении ее среди полученных клонов и между референтными штаммами данного вируса не выявлено существенных изменений.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа проведена при финансовой поддержке гранта РФФИ 14-04-31862 мол_а «Функциональные особенности основных детерминант лентивирусов животных» (2014 – 2015 гг).

Investigation of molecular genetic characteristics of small ruminant lentivirus. Baryshnikova E.I., Kolbasova O.L., Malogolovkin A.S.

SUMMARY

This article presents the data on obtaining full copies of viral genes vif-, tat-, pol-, gag–maedi-visna and cloning of the gene in the pTZ57R and pGEM. The mutations into all genes are proved. But all of these are not important for amino acids changes.

After nucleotide sequencing of recombinant clones were obtained and the analysis of the obtained sequences revealed the presence of variability not only within the individual members of the same species viral agent, but among recombinant clones derived from one strain of a pathogen, visna-maedi. A significant number of nucleotide substitutions is not synonymous. However, in the study and compared the hydrophobicity profiles among the clones obtained, it between the reference strains of the virus with no significant changes.

ЛИТЕРАТУРА

1. Clements, J.E. Molecular biology and pathogenesis of animal lentivirus infections / J.E. Clements, M.C. Zink // Clinical microbiology reviews. – 1996. – Vol. 9, N. 1. – P. 100-117.
2. Molecular characterization and phylogenetic study of MaediVisna and Caprine Arthritis Encephalitis viral sequences in sheep and goats from Spain / R. Reina, M.I. Mora, I. Glaria, I. Garcia, C. Solano, L. Lujan [et. al.] // Virus Res. – 2006. – Vol. 121, N. 2. – P. 189 – 198.

УДК 619:616.98:579.873.21:616-07+619:615.9+636.028

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ У КРОЛИКОВ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ *Mycobacterium bovis* НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ТЯЖЕЛЫМИ МЕТАЛЛАМИ

Валеева А.Р., Конохова В.А., Хисматуллина Н.А., Ахмадеев Р.М., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н.
(Казанский федеральный университет, ФЦ токсикологической, радиационной и биологической безопасности)

Ключевые слова: туберкулез, экспериментальная инфекция, кадмий. Keywords: tuberculosis, experimental infection, cadmium.

В статье представлены результаты изучения патоморфологических изменений внутренних органов кроликов, остаточного содержания кадмия в органах, а также корреляция этих показателей с общей зараженностью организма *M. bovis* на фоне хронической интоксикации хлористым кадмием. Установлено влияние интоксикации на течение туберкулезного патогенеза, что проявляется в увеличении индекса инфицированности.

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез – мультифакторная инфекция, поражающая человека и животных, возбудители которого обладают возможностью перекрестного заражения и способностью к L-трансформации под действием внешних факторов. При этом изменение условий окружающей среды оказывает влияние, как на возбудители туберкулеза, так и на иммунологическую реактивность инфицированного организма [2]. Наиболее опасными экотоксикантами считаются тяжелые металлы, и особое место среди них занимает кадмий [1, 3, 4]. Кадмий поражает клетки легких, печени, почек, нарушает биохимические процессы, ингибирует активность многих ферментов, ослабляет защитные реакции.

Целью исследования являлось изучение патоморфологических изменений внутренних органов, а также остаточное содержание кадмия в органах и тканях модельных животных (кролики), зараженных *M. bovis* на фоне хронической интоксикации хлористым кадмием.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в условиях вивария на кроликах весом 3-3,5 кг. В период проведения эксперимента условия кормления и содержания всех животных были одинаковыми и соответствовали существующим зоотехническим нормам. Исследование проводили в соответствии с требованиями комиссии по биоэтике ФЦТРБ-ВНИВИ.

В работе использовали возбудитель туберкулеза *M. bovis* Bovinus-8, соль хлористого кадмия. Экспериментальные животные были разделены на 4 группы. Кроликам первой и третьей групп ежедневно, в течение 60 дней, вводили водный раствор $CdCl_2$ в желудок в дозе 1,5 мг/кг. Животным второй и контрольной (4-ой) групп в течение всего эксперимента вводили такое же количество дистиллированной воды. На 15 сутки от начала эксперимента кроликам второй и третьей групп в области правого бедра подкожно ввели 1 мл суспензии, содержащей 1 млрд живых клеток *M. bovis* Bovinus-8.

Патологические изменения внутренних органов рассматривали на примере печени и селезенки, определяли массовый коэффициент исследуемых органов и фотометрию селезенки. Наличие кадмия в органах и тканях животных экспериментальных групп определяли атомно-

адсорбционным методом на спектрофотометре АAnalyst-200, подготовку проб осуществляли в соответствии с ГОСТ 30178-96.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программ Microsoft Excel и STATISTICA.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При осмотре внутренних органов животных всех экспериментальных групп выявили изменения морфологии печени и селезенки. Печень кроликов экспериментальных групп отличалась от печени кроликов контрольной цветом, окрас варьировал от яркого красно-коричневого до коричневого, встречались неоднородное окрашивание и мелкие очаги измененной ткани, и формой, увеличивался объем органа, округлялись края. Печень кроликов в 1-ой, 2-ой и 3-ей экспериментальных группах относительно контрольной по показателю массового коэффициента была увеличена на 25, 28 и 26 % соответственно.

Селезенка кроликов всех экспериментальных групп была увеличена, имела неправильную форму с латеральными и дорсальными отростками и бурым окрасом. Массовый коэффициент селезенки был выше на 78% в 1-ой, 2-ой группах и в 2 раза при сочетании хронической интоксикации и заражении (3-я группа). При фотометрии выявили наибольшее патоморфологическое изменение селезенки у особей 3-ей группы. Так у кроликов подвергавшихся хронической интоксикации $CdCl_2$ и заражению *M. bovis* соотношение длины селезенки к ширине составило 19,32 %, тогда как в 1-ой, 2-ой и контрольной группах 18,2%, 16,52% и 14,4 % соответственно.

При изучении остаточного содержания кадмия в органах и тканях животных выявили большее накопление металла в группе животных зараженных *M. bovis* на фоне хронической интоксикации $CdCl_2$. У животных 3-ей группы кадмий обнаружили в печени, почках, легких, селезенке, сердце мышечной и костной тканях, тогда как в костной ткани животных 1-ой группы кадмий находился в концентрациях ниже предела обнаружения. Наибольшее накопление наблюдали в печени (6,5 мг/кг в 1-ой, 14,72 мг/кг в 3-ей группе) и почках (7,6 и 44,54 мг/кг соответственно).

В результате посева суспензий приготовленных из органов кроликов всех экспериментальных групп микобактерии выделили во 2-ой и 3-ей группах. В 3-ей экспериментальной группе

микобактерии были выделены из следующих органов: сердце, печень, почки, легкие, лимфатические узлы и миндалины. У животных 2-ой экспериментальной группы в миндалинах и легких микобактерии не были выявлены. При этом индекс инфицированности во 2-ой и 3-ей группах составил 78 и 85% соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе исследования установлено, что у кроликов зараженных *M. bovis* на фоне хронической интоксикации хлористым кадмием более выражены морфофункциональные нарушения внутренних органов, вызванные как хроническим воздействием малых доз кадмия, так и течением инфекционного процесса.

Pathomorphological lesions in *M. bovis* infected rabbits under heavy metal chronic intoxication. Valeeva A.R., Konyukhova V.A., Khismatullina N.A., Akhmadeev R.M., Shuralev E.A., Mukminov M.N.

SUMMARY

The paper presents the results of a study of pathological lesions, residual cadmium content in

rabbits, as well as the correlation of these parameters with a total infectivity of the body by *M. bovis* under chronic intoxication with cadmium chloride. The effect of intoxication on the course of tuberculosis pathogenesis which is manifested in the increase of the infectivity is established.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ежкова А.М., Яппаров А.Х., Ежкова М.С. Структурно-функциональные особенности печени и почек коров в зависимости от условий техногенной нагрузки // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2011. Т. 207. С. 231-236.
2. Климова Ю.В., Кузнецов И.А., Расулов М.М., Деманов А.В. Уровень загрязнения атмосферы – показатель распространения туберкулеза легких // Естественные и технические науки. 2011. №6. С. 140-141.
3. Новиков В.А., Тремасов М.Я. Техногенное воздействие тяжелых металлов // Ветеринария. 2004. №11. С. 51-55.
4. Онищенко Г.Г. Химическая безопасность – важнейшая составляющая санитарно-эпидемиологического благополучия населения // Токсикологический вестник. 2014. №1(124). С. 2-3.

УДК 619: 57.083.3: 636.2: 616

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПРИ ИНВАЗИИ *EIMERIA BOVIS* У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Верещак Н.А., Печура Е.В., Опарина О.Ю. (Уральский НИВИ)

Ключевые слова: Эймериоз, иммунологический статус, фагоцитарная активность, интактные животные, лимфоциты, эозинофилы. **Key words:** Eimeriozu, immunological status, phagocytic activity, intact animals, lymphocytes, eosinophils.

Выполнена оценка Т- и В- систем иммунитета, фагоцитоза. Изучены показатели циркулирующих иммунных комплексов при инвазии *Eimeria bovis* у крупного рогатого скота.

Проведенные исследования свидетельствуют, что в период интенсивного воздействия *Eimeria bovis* на организм животных в нем происходит сложная иммунобиологическая перестройка.

Наличие паразитов в организме способствует подавлению иммунного статуса, что подтверждается низкими показателями гуморального и клеточного иммунитета.

У интактных животных наблюдается уменьшенное содержание гемоглобина на 20%, эозинофилия, моноцитоз, количество Т-лимфоцитов снижено на 28,3-39,4%, фагоцитарная активность и поглотительная способность нейтрофилов в 1,5 раза, возросло содержание циркулирующих иммунных комплексов, в результате чего подавляются защитные механизмы хозяина, развивается иммунодефицитное состояние животных.

ВВЕДЕНИЕ

Иммунный ответ на возбудителей инвазий определяется особенностями их биологии и антигенной структуры. Особое значение в иммуногенезе паразитарных болезней животных имеют жизненный цикл паразита, его антигенная пластичность и изменчивость [3].

Интенсивность иммунного ответа зависит от числа гельминтов, поступающих в организм [2].

При развитии инвазионного процесса способ-

ность организма животного противостоять возбудителям гельминтозов определяется, в основном, активностью гуморальных и клеточных факторов защиты.

Проведенный анализ Е. С. Лейкиной (1978) отечественной и зарубежной литературы по механизму иммунитета при гельминтозах, показал, что паразиты могут оказывать на организм хозяина двоякое воздействие. С одной стороны, они стимулируют иммунный ответ, в результате