

Библиографический список

1. Семенов П.В. Гемоспоридиозы лошадей и меры борьбы с ними. – Барнаул, 1955. – С. 45-55.
2. Дроздова Ю.В., Санегина В.Ф. Ландшафтное распространение иксодовых клещей в северо-восточном Алтае // Известие Алтайского отдела географического общества Союза СССР. – 1965. – В. 5 – С. 181-182.
3. Каган И.Я. Клещевая фауна и гемоспорициозная ситуация в Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Омск, 1949. – 21 с.
4. Кербабаяев Э.Б., Яременко Н.А., Катаева Т.С. и др. Эпизоотологическая ситуация по пироплазмидозам и борьба с их переносчиками // Ветеринария. – 2000. – № 6 – С. 10-13.
5. Марков А.А. Кровепаразитарные заболевания с.-х. животных (пироплазмидозы, бабезиозы, нутталиоз) и принципы борьбы с ними // Труды ВИЭВ. – 1957. – № 1. – Т. 21. – С. 3-4.
6. Callow L.L. Animal health in Australia. Volume 5. Protozoal and rickettsial diseases. Australian Government Publishing Service. 1984 pp. ix + 264 pp.
7. Джупина С.И. Методы эпизоотологического исследования и теория эпизоотического процесса. – Новосибирск: Наука; Сиб. отд-е, 1991. – 142 с.
8. de Waal D.T. (1992). Equine piroplasmiasis: a review. *Br. Vet. J.* Vol. 148 (1): 6-14.

References

1. Semenov P.V. Gemosporidiosis of horses and measures of control. – Barnaul, 1955. – S. 45-55.
2. Drozdova Yu.V., Sanegina V.F. Landshaftnoe rasprostranenie iksodovykh kleshchey v severo-vostochnom Altae // *Izvestiya Altayskogo otdela geograficheskogo obshchestva Soyuz SSSR.* – 1965. – V. 5. – S. 181-182.
3. Kagan I.Ya. Kleshchevaya fauna i gemosporidionnaya situatsiya v Zapadnoy Sibiri: avtoref. diss. ... kand. vet. nauk. – Omsk, 1949. – 21 s.
4. Kerbabayev E.B., Yaremenko N.A., Kataeva T.S. i dr. Epizootologicheskaya situatsiya po piroplazmidozam i borba s ikh perenoschikami // *Veterinariya.* – 2000. – No. 6. – S. 10-13.
5. Markov A.A. Kroveparazitarnye zabolovaniya selskokhozyaystvennykh zhivotnykh (piroplazmidozy, babeziozy, nuttaliyoz) i printsipy borby s nimi // *Trudy VIEV.* – 1957. – No.1. – T. 21. – S. 3-4.
6. Callow L.L. Animal health in Australia. Volume 5. Protozoal and rickettsial diseases. Australian Government Publishing Service. 1984 pp. ix + 264 pp.
7. Dzhupina S.I. Metody epizootologicheskogo issledovaniya i teoriya epizooticheskogo protsessa. – Novosibirsk: Nauka. Sib. otd-e., 1991. – 142 s.
8. de Waal D.T. (1992). Equine piroplasmiasis: a review. *Br. Vet. J.* Vol. 148 (1): 6-14.



УДК 619:578.835.1

Е.О. Абдураимов, А.Р. Нургазиева
Ye.O. Abduraimov, A.R. Nurgaziyeva

ОТРАБОТКА ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА В РАЗВИВАЮЩИХСЯ КУРИНЫХ ЭМБРИОНАХ

TESTING THE OPTIMAL CONDITIONS FOR CULTIVATION OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS STRAIN IN DEVELOPING CHICKEN EMBRYOS

Ключевые слова: болезнь Ньюкасла, везикулярная, культивирование, РГА, куриные эмбрионы, штамм, вакцина.

Keywords: Newcastle disease, velogenic virus, cultivation, hemagglutination reaction, chicken embryos, strain, vaccine.

Болезнь Ньюкасла регистрируется на всех континентах земного шара, кроме Австралии, и вызывает большие экономические потери в птицеводстве. В Кыргызской Республике вспышки болезни Ньюкасла отмечены в 2015 и 2016 гг. Несмотря на то, что возбудитель болезни Ньюкасла достаточно изучен, известны особенности течения вызываемой им инфекции, но проблема ликвидации инфекции остается пока нерешенной. В наших исследованиях мы изучали и отрабатывали оптимальные условия культивирования выделенного штамма вируса болезни Ньюкасла в развивающихся куриных эмбрионах. Для этого проводили заражения куриных эмбрионов различными дозами.

Newcastle disease is registered on all continents of the globe, except Australia, and causes large economic losses in the poultry industry. In the Kyrgyz Republic, Newcastle disease outbreaks were noted in 2015 and 2016. Despite the fact that the causative agent of Newcastle disease has been studied extensively, the specific features of the course of the infection are known, but the problem of eliminating the infection remains unresolved. In our studies, we studied and worked out the optimal conditions for the cultivation of the isolated strain of the Newcastle disease virus in developing chicken embryos. For this purpose, chick embryos were infected with various doses of infected embryos.

Абдураимов Ергали Орынбасарович, д.в.н., гл. ученый секретарь, НИИ проблем биологической безопасности, Жамбылская обл., Республика Казахстан. E-mail: yergali.a@biosafety.kz

Нургазиева Асел Рысбековна, к.б.н., зав. лаб. вирусологии и биотехнологии, Кыргызский НИИ ветеринарии им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: nurgazieva10@gmail.com.

Abduraimov Yergali Orynbasarovich, Dr. Vet. Sci., Leading Scientific Secretary, Research Institute for Biological Safety Problems, Jambyl Region, Republic of Kazakhstan. E-mail: yergali.a@biosafety.kz.

Nurgaziyeva Asel Rysbekovna, Cand. Bio. Sci., Head of Lab., Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: nurgazieva10@gmail.com.

Введение

Болезнь Ньюкасла и грипп птиц являются наиболее контагиозными и опасными вирусными инфекциями домашних и диких птиц. Их возбудители вызывают опустошительные вспышки во всех регионах мира и наносят значительный урон птицеводству [1, 2].

Вирус болезни Ньюкасла (ВБН) относится к роду Avulavirus семейства Paramyxoviridae и характеризуется минус-нитевым РНК-геномом. Его вирионная РНК представлена шестью генами, кодирующими гемагглютинин-нейраминидазу (HN), нуклеопротеин (NP), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), РНК-зависимую РНК-полимеразу (L) и белок слияния (F), дополнительно имеются два неструктурных белка V и W [3].

Впервые болезнь описана F. Kranveld в 1926 г. на о. Ява [4], а сам вирус выделен T. Doyle в 1927 г. [5]. В бывшем СССР от водоплавающих птиц ВБН впервые изолирован в 1974 г. [6]. На территории Казахстана вирус обнаружен у синантропных (домовой и полевой воробей, серая ворона, сорока) и домашних птиц, а также у диких голубей во время их массовой гибели [7-9].

В Кыргызстане болезнь Ньюкасла среди птиц регистрируется с 1985 г. В Республике Казахстан, граничащим с Кыргызской Республикой, болезнь Ньюкасла регистрировалась в различных регионах в 2010, 2012 и 2013 гг. Другие близлежащие страны к Кыргызской Республике по официальным данным МЭБ являются благополучными по болезни Ньюкасла [9, 10].

Материалы и методы исследования

В Кыргызском научно-исследовательском институте ветеринарии были проведены исследования по отработке оптимальных условий культивирования вируса болезни Ньюкасла в развивающихся куриных эмбрионах (ПКЭ). Образцы были получены из неблагополучных хозяйств. В аллантоидную полость (АП) 10-дневных куриных эмбрионов были инокулированы 20% гомогенизованных образцов объемом 0,2 мл супернатанта. После инкубации в течение трех дней при 37°C аллантоисные жидкости (АЖ) испытывали в реакции гемагглютинации (РГА) в соответствии с Руководством ВОЗ по диагностике и наблюдению за птичьим гриппом. Аллантоисные жидкости с отри-

цательными результатами применяли для вторичной инокуляции. В исследовании были использованы куриные эмбрионы, полученные из инкубатора, инкубированные в термостате при температуре 37°C и влажности 60-70%. Эмбрионы 9-11-дневного возраста заражали, вводя по 0,2 мл вирусосодержащего раствора в аллантаоисную полость. Для этого в скорлупе на стороне зародыша на 5-6 мм выше границы воздушной камеры делали отверстие диаметром около 1 мм. Иглу вводили параллельно продольной оси на глубину 10-12 мм. После инъекции отверстие в скорлупе закрывали. Индикация выделенного вируса была проведена в РГА.

Реакция гемагглютинации проведена в соответствии с руководством ВОЗ по диагностике и контролю болезни Ньюкасла. РГА используется с целью определения наличия вируса в исследуемом материале и его титрования. Гемагглютинины входят в состав вирусной частицы (вириона) и могут содержаться в инфицированных вирусом аллантаоисной и амниотической жидкостях, оболочках и органах куриного эмбриона; в легких, печени и селезенке погибшей птицы, в жидкой и клеточной фракциях культур ткани. Качественную оценку РГА проводили по степени агглютинации клеток крови от «+» до «++++».

Статистическую обработку результатов исследований осуществляли с помощью пакета программ SPSS 12.0 для ОС Windows. Достоверность полученных отличий определяли с использованием t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми различия считали при $P \leq 0,05$. Экспериментальные данные представлены в виде среднего значения (\bar{X}) и стандартной ошибки среднего значения ($\pm SE$).

Результаты исследований и их обсуждения

В племенных птицеводствах для иммунизации взрослого маточного поголовья ветеринарные специалисты отдавали предпочтение инактивированным вакцинам. Использование для их приготовления высоковирулентных везикулярных штаммов вируса болезни Ньюкасла не всегда оправдано с противозооэпидемиологической точки зрения из-за

возможной остаточной вирулентности. С целью испытания более широкого спектра вакцинных штаммов возникла необходимость отработать оптимальные условия культивирования, имевшиеся в наличии мезогенного штамма болезни Ньюкасла (БН), обеспечивающее максимальное его накопление в РКЭ, и дать оценку пригодности сырья для использования в указанном выше целевом направлении. Первоначально испытывали влияние на уровень накопления вируса заражающей дозы и объема инокулируемого в РКЭ вирусосодержащего материала. С этой целью лиофильно высушенный вирусосодержащий материал штамма вируса БН с биологической активностью $8,78 \pm 0,15 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ разводили физиологическим раствором хлористого натрия от 10^{-1} до 10^{-8} степени.

Разведениями вируса от 10^{-1} до 10^{-8} инфицировали 10-сут. РКЭ в АП в объеме 0,1 и 0,2 см³ (дозы от $6 \cdot 10^4$ до 0,6 ЭИД₅₀ на эмбрион и от $1,2 \cdot 10^5$ до 1,2 ЭИД₅₀ на эмбрион соответственно). На каждый вариант заражения использовали по 10 РКЭ. Инфицированные эмбрионы инкубировали при испытанном для других штаммов режиме. Начиная с 24 ч после заражения эмбрионы овоплодировали через каждые 6 ч, а погибшие помещали на охлаждение при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Уровень накопления вируса оценивали в количественной РГА по титрам его гемагглютининов в АЖ. Результаты исследований представлены в таблице.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что при объеме инокулируемого вирусосодержащего материала 0,1 см³ накопление гемагглютининов штамма вируса БН происходит на высоком уровне и существенно не различается ($P > 0,5$) при использовании для заражения РКЭ разведений вируса до 10^{-6} (доза в данном случае $\sim 60 \text{ ЭИД}_{50}$). При заражении РКЭ меньшими дозами этого же объема материала уровень накопления гемагглютининов существенно снижается ($P < 0,01$). При испытании объема вводимого материала в количестве 0,2 см³ вне зависимости от заражающей дозы накопление гемагглютининов оказалось практически одинаковым ($P > 0,5$).

Уровень накопления вируса БН

Объем вводимого материала, см ³	Титры гемагглютининов при разведениях вирусосодержащего материала					
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
0,1	358±79	313±54	384±99	320±53	99±47	25±15
0,2	302±62	320±47	295±41	320±80	311±39	359±87

Выводы

Таким образом, при заражении РКЭ штаммом вируса НБ с биологической активностью не ниже 8,8 lg ЭИД₅₀/см³ можно использовать любые разведения вируса при объеме вводимого материала 0,2 см³ и разведения до 1:10⁶ вируса при объеме вводимого материала 0,2 см³ и разведения вируса при объеме инокулята 0,1 см³. При отработанных вариантах культивирования штамма болезни Ньюкасла проводили наработку вирусосодержащего сырья.

Библиографический список

1. Alexander D.J. (2000). Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* Vol. 19 (2): 443-462.
2. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. (1992). Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev.* Vol. 56 (1): 152-179.
3. Каверин Н.В., Львов Д.К. Парамиксовирусы (Paramyxoviridae) // Медицинская вирусология. – 2008. – С. 183-189.
4. Kranveld F.Ye. (1926). About a poultry disease in the Netherlands Indies. *Ned. Indies, Bl. Diergeneek.* Vol. 38: 448-450.
5. Doyle T.M. (1927). A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter passing virus. *Journal of Comparative Pathology.* Vol. 40: 162-171.
6. Львов Д.К., Сюрин Л.К., Никифоров А.П., Портянко Н.В., Сазонов А.А., Андреев В.П., Чумаков В.М., Белоусова Р.В., Константинова Л.А., Забигаило Н.М., Львов Н.Д., Михтарьянц Э.А., Мымрин Н.И., Жезмер В.Ю. Обнаружение природных очагов вируса болезни Ньюкасл в СССР // Вопросы вирусологии. – 1977. – № 3. – С. 11-315.

7. Саятов М.Х., Бутакова И.Ш., Богомолова Т.С., Асанова С.Е., Шахворостова Л.И., Даулбаева К.Д., Ишмухаметова Н.Г., Кыдырманов А.И., Жуматов К.Х. Межвидовая трансмиссия вируса болезни Ньюкасла // Поиск. – 2005. – № 2. – С. 56-63.

8. Саятов М.Х., Кыдырманов А.И., Бутакова И.Ш. Структурная организация и антигенная вариабельность вируса болезни Ньюкасла // Вестник Казахского национального университета им. аль-Фараби. Серия биологическая. – 2002. – № 1 (16). – С. 36-45.

9. Орынбаев М.Б., Султанкулова К.Т., Керимбаев А.А., Строчков В.М. Молекулярно-биологические свойства патогенных вирусов болезни Ньюкасла, выделенных на территории Казахстана // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51. 1 2. – С. 255-263

10. Bogoyavlenskiy A., Berezin V., Prilipov A., Usachev E., Lyapina O., Korotetskiy I., Zaitceva I., Asanova S., Kydyrmanov A., Daulbaeva K., Shakhvorostova L., Sayatov M. and King D. Newcastle disease outbreaks in Kazakhstan and Kyrgyzstan during 1998, 2000, 2001, 2003, 2004 and 2005 were caused by viruses of the genotypes VIIb and VIId. – 2009. – No. 39. – P. 94-101.

References

1. Alexander D.J. (2000). Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* Vol. 19 (2): 443-462.
2. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. (1992). Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev.* Vol. 56 (1): 152-179.

3. Kaverin N.V., Lvov D.K. Paramiksovirusy (Paramyxoviridae) // *Meditsinskaya virusologiya*. – 2008. – S. 183-189.
4. Kranveld F.Ye. (1926). About a poultry disease in the Netherlands Indies. *Ned. Indies, Bl. Diergeneek*. Vol. 38: 448-450.
5. Doyle T.M. (1927). A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter passing virus. *Journal of Comparative Pathology*. Vol. 40: 162-171.
6. Lvov D.K., Syurin L.K., Nikiforov A.P., Portyanko N.V., Sazonov A.A., Andreev V.P., Chumakov V.M., Belousova R.V., Konstantinova L.A., Zabigaylo N.M., Lvov N.D., Mikhtaryants E.A., Mymrin N.I., Zhezmer V.Yu. Obnaruzhenie prirodnykh ochagov virusa bolezni Nyukasla v SSSR // *Voprosy virusologii*. – 1977. – No. 3. – С. 11-315.
7. Sayatov M.Kh., Butakova I.Sh., Bogomolova T.S., Asanova S.Ye., Shakhvorostova L.I., Daulbaeva K.D., Ishmukhametova N.G., Kydyrmanov A.I., Zhumatov K.Kh. Mezhdovidovaya transmissiya virusa bolezni Nyukasla // *Poisk*. – 2005. – No. 2. – S. 56-63.
8. Sayatov M.Kh., Kydyrmanov A.I., Butakova I.Sh. Strukturnaya organizatsiya i antigennaya variabelnost virusa bolezni Nyukasla // *Vestnik Kazakhskogo natsionalnogo universiteta im. al-Farabi. Seriya biologicheskaya*. – 2002. – No. 1 (16). – S. 36-45.
9. Orynbaev M.B., Sultankulova K.T., Kerimbaev A.A., Stochkov V.M. Molekulyarno-biologicheskie svoystva patogennykh virusov bolezni Nyukasla, vydelennykh na territorii Kazakhstana // *Selskokhozyaystvennaya biologiya*. – 2016. – Т. 51. – S. 255-263.
10. Bogoyavlenskiy A., Berezin V., Prilipov A., Usachev E., Lyapina O., Korotetskiy I., Zaitceva I., Asanova S., Kydyrmanov A., Daulbaeva K., Shakhvorostova L., Sayatov M. and King D. Newcastle disease outbreaks in Kazakhstan and Kyrgyzstan during 1998, 2000, 2001, 2003, 2004 and 2005 were caused by viruses of the genotypes VIIb and VIId. – 2009. – No. 39. – P. 94-101.



УДК 636.034

С.И. Николаев, Л.В. Андреев, М.В. Струк, О.Е. Карнаухова
S.I. Nikolayev, L.V. Andreyenko, M.V. Struk, O.Ye. Karnaukhova

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ ПРИ ВВЕДЕНИИ В КОМБИКОРМА НЕТРАДИЦИОННОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

HEMATOLOGICAL PARAMETERS OF POULTRY WITH THE INTRODUCTION OF NON-TRADITIONAL FEED SUPPLEMENTS INTO DIETS

Ключевые слова: кровь, лейкоциты, эритроциты, куры-несушки, молодняк, желатный кремний, полидобавка, комбикорм, рацион, морфологические показатели, биохимические показатели.

В условиях развития современного птицеводства в рационе птицы оригинальные кормовые добавки, в том числе кремнийсодержащие, играют решающую роль в получении полноценных по питательным веществам продуктов питания, таких как яйцо, мясо кур. Учеными Волгоградского государственного аграрного университета было проведено исследование по внедрению биорастворимой формы кремния, в составе полидобавки «НаБиКат», в различных концентрациях

в рацион молодняк и кур-несушек. Эксперимент проходил в условиях Волгоградской области на базе ЗАО «Птицефабрика «Волжская» в 2015-2019 гг. Для проведения опыта птица была сформирована методом аналогов (четыре группы: контрольная и три опытные). Птица контрольной группы получала стандартный рацион, в комбикорм 1-, 2- и 3-й опытных групп дополнительно вводили добавку в концентрации, соответственно, 0,12; 0,15 и 0,17%. Для определения полноценности кормления у птицы определили морфологический и биохимический состав крови. В опытных группах выявилась положительная динамика эритроцитов, лейкоцитов, общего белка, глюкозы, кальция, фосфора в крови птицы. Все вышеперечис-