

9. Яхонтов А.А. Зоология для учителя. Хордовые / под ред. А.В. Михеева. – М.: Просвещение, 1985. – 256 с.

References

1. Agoltsov V.A. Kandidoz, aspergillez i mukoroz zhivotnykh (diagnostika i mery borby): avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk. – N. Novgorod, 2006. – S. 12.

2. Bagryatsova A.L. Mikrobiologicheskiy monitoring sinantropnykh ptits v g. Ulan-Ude i p. Maysk Kurumkanskogo rayona Respubliki Buryatiya: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk. – Barnaul, 2005. – 18 s.

3. Baryshnikov P.I., Bondarev A.Yu., Novikov B.V. Infektsionnye bolezni dikikhptits v lesostepnoy oblasti Altayskogo kraya // Veterinariya. – 2012. – № 6. – S. 28-31.

4. Baryshnikov P.I. Virusnye infektsii dikikh ptits v stepnoy oblasti Altayskogo kraya // Vestnik

Altayskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2017. – № 3. – S. 129-132.

5. Belousova R.V., Syurin V.N. Rol pereletnykh ptits v rasprostraneniі virusov v prirode: lektsiya. – M., 1977. – 53 s.

6. Korovin R.N., Zelenskiy V.P., Grosheva G.A. Laboratornaya diagnostika bolezney ptits: spravochnik. – M.: Agropromizdat, 1989. – 256 s.

7. Villegas P. Viral diseases of the respiratory system // Poultry Science. – 1998. – Vol. 77 (8). – P. 1143-1145.

8. Lvov D.K., Ilichev V.D. Migratsii ptits i perenos vzbuditeley infektsiy. – M.: Nauka, 1979. – 271 s.

9. Yakhontov A.A. Zoologiya dlya uchitelya. Khordovye / pod red. A.V. Mikheeva. – M.: Prosveshchenie, 1985. – 256 s.



УДК 619:578.835.1

Р.З. Нургазиев, А.Р. Нургазиева, Е.Д. Крутская, М.К. Исакеев
R.Z. Nurgaziyev, A.R. Nurgaziyeva, Ye.D. Krutskaya, M.K. Isakeyev

ВЫДЕЛЕНИЕ ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА НА ТЕРРИТОРИИ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

NEWCASTLE DISEASE VIRUS ISOLATION IN THE TERRITORY OF THE KYRGYZ REPUBLIC

Ключевые слова: болезнь Ньюкасла, куриные эмбрионы, РГА, титр, суспензия, вирус, аллантоисная полость, очаговость, инкубация.

Keywords: Newcastle disease, chicken embryos, hemagglutination test, titer, suspension, virus, allantoic cavity, focality, incubation.

Диагноз устанавливают с учетом эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных с обязательными лабораторными исследованиями по выделению и типизации вируса. В начальной стадии эксперимента был отобран патологический материал, стерильно изъят от больных птиц с явными клиническими признаками и с трупов птиц. Из легких готовили 10%-ную суспензию на физиологическом растворе с соблюдением правил асептики. Куриные эмбрионы 9-11-дневного возраста заражали вирусной суспензией по 0,2 мм в аллантоисную полость. Извлеченную аллантоисную жидкость из куриного эмбриона проверяли с помощью реакции гемагглютинации (РГА). По результатам РГА был получен положительный результат в титрах от 1:128 до 1:256.

The diagnosis is made taking into account epizootological, clinical and pathoanatomical data with obligatory laboratory studies on the isolation and typing of the virus. At the initial stage of the experiment, we selected pathological material; under sterile conditions it was taken from sick birds with obvious clinical signs and from bird corpses. From the lungs, a 10% suspension was prepared in physiological saline with the observance of aseptic rules. Chicken embryos of 9-11 days of age were infected with 0.2 mm of viral suspension into the allantoic cavity. The extracted allantoic fluid from a chicken embryo was tested by hemagglutination test. According to the results of the hemagglutination test, a positive result was obtained in titers from 1:128 to 1:256.

Нургазиев Рысбек Зарылдыкович, д.в.н., проф., член-корр. НАН КР, ректор, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: knau-info@mail.ru.

Nurgaziyev Rysbek Zaryldykovich, Dr. Vet. Sci., Prof., Corresponding Member of Natl. Acad. of Sci. of Kyrgyz Republic, Rector, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: knau-info@mail.ru.

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.

Крутская Екатерина Дмитриевна, к.в.н., доцент, лаб. вирусологии и биотехнологии, Кыргызский НИИ ветеринарии им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: katysha_dm@mail.ru.

Исакеев Майрамбек Кыдыралиевич, м.н.с., Кыргызский НИИ ветеринарии им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: maku-0711@mail.ru.

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.

Krutsкая Yekaterina Dmitriyevna, Cand. Vet. Sci., Assoc. Prof., Kyrgyz Research Institute of Veterinary Medicine named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: katysha_dm@mail.ru.

Isakeyev Mayrambek Kydyraliyevich, Junior Staff Scientist, Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: maku-0711@mail.ru.

Введение

Актуальность этой темы для ветеринарных врачей велика, так как отмечается летальность при данном заболевании. Продуктивность вакцинированной птицы снижается на 20-60%, к тому же данное заболевание требует значительных экономических средств на внедрение мероприятий в отношении ликвидации и профилактики данного заболевания.

Вирус болезни Ньюкасла (ВБН) или APMV-1 (Avian Paramyxovirus 1) принадлежит к семейству парамиксовирусов (Paramyxoviridae), подсемейству Paramyxovirinae, роду Avulavirus. Семейство парамиксовирусов включает ряд вирусов, вызывающих опасные заболевания человека и животных, среди них особенно известны такие, как вирус кори, респираторно-синцитиальный вирус (RSV), вирус парагриппа (parainfluenza), вирус инфекционного паротита, вирус болезни Ньюкасла, вирус чумы рогатого скота [3, 6, 7].

Как показывает анализ оперативных данных, наиболее часто регистрируемые в Кыргызстане инфекционные болезни птиц: болезнь Ньюкасла, инфекционный ларинготрахеит, инфекционный бронхит. По данным Государственной инспекции ветеринарной и фитосанитарной безопасности при Правительстве Кыргызской Республики в 2009-2016 гг. в республике ежегодно регистрировались неблагополучные пункты по болезни Ньюкасла, сопровождающиеся большими потерями домашней птицы. Нам удалось собрать патологический материал от павших цыплят для установления причины падежа птиц и идентификации выделенного возбудителя.

Вирусологические методы позволят выделить вирус от больных птиц, что дает возможность изучать биологические свойства вируса. Эта информация является важной для сопоставления

циркулирующих эпидемических штаммов вируса и эталонных штаммов, разработки рекомендаций относительно лечения и профилактики заболевания, а также для определения вакцины на предстоящий эпидемический сезон.

В Кыргызстане болезнь Ньюкасла среди птиц регистрируется с 1985 г. В Республике Казахстан, граничащей 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 [4, 5].

Цель работы – выявление возбудителя болезни Ньюкасла с целью филогенетической характеристики циркулирующего штамма на территории Кыргызстана.

Материалы и методы

Работа выполнена в лаборатории вирусологии и биотехнологии Научно-исследовательского института ветеринарии имени А. Дуйшеева. В качестве патологического материала были использованы легкие больных птиц, взятые во время вспышки болезни Ньюкасла в Кыргызской Республике в 2012-2016 гг.

Из легких готовили 10%-ную суспензию на физиологическом растворе с соблюдением правил асептики. Для этого навеску в 1 г растирали с небольшим количеством стеклянного песка до получения гомогенной массы и добавляли 9 мл физиологического раствора, содержащего 100 ЕД/мл тетрациклина. Полученную массу еще раз растирали в ступке и переносили во флакон.

Для освобождения взвеси от крупных частиц суспензию центрифугировали при 3000 об/мин. 15 мин.

Патологический материал для заражения куриных эмбрионов

| Название | Дата | Вид | Возраст, мес. | Орган | Вакцинация |
|----------|-------------------|----------|---------------|--------|------------|
| Куr1 | Сентябрь, 2015 г. | Цыпленок | 1 | Легкие | Нет |
| Куr2 | Июнь, 2016 г. | Цыпленок | 4 | Легкие | Нет |
| Куr3 | Июнь, 2016 г. | Цыпленок | 4 | Легкие | Нет |

Куриные эмбрионы как живая система вошли в вирусологическую практику. Так, скорлупа и подскорлупная оболочка надежно защищают эмбрион от бактериального заражения со стороны внешней среды. Важным преимуществом эмбрионов является также их высокая чувствительность к широкому спектру вирусов, что объясняется недостаточным развитием защитных механизмов.

Для исследования были использованы куриные эмбрионы, полученные из инкубатора, которые инкубировали в термостате при температуре 37°C и влажности 60-70%. Эмбрионы 9-11-дневного возраста заражали по 0,2 мм в аллантаисную 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 вирусосодержащего материала отверстие в скорлупе закрыли каплей расплавленного стерильного парафина.

Через 72 ч проверили заражённый эмбрион. Перед вскрытием скорлупу эмбриона обработали, затем ее срезали и аллантаисную жидкость в количестве до 10 мл отсасывали пипеткой, которой прокалывают под скорлупную оболочку и над телом зародыша. Такое направление пипетки предотвращает случайный разрыв стенки желточного мешка и смешивание его содержимого с набираемой аллантаисной жидкостью. В таблице 1 приведены данные о заражении вирусосодержащей суспензией куриного эмбриона.

Извлеченную аллантаисную жидкость из куриного эмбриона проверяли с помощью реакции гемагглютинации (РГА) на способность гемагглютинации куриных эритроцитов.

Качественную оценку РГА проводили по степени агглютинации клеток крови от «+» до «++++».

Реакция гемагглютинации (РГА). Реакция гемагглютинации (РГА) 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 аллантаисной и амниотической жидкостях, оболочках и органах куриного эмбриона; в легких, печени и селезенке погибшей птицы, в жидкой и клеточной фракциях культур ткани.

Результаты и их обсуждение

Сложная эпизоотологическая ситуация относительно Ньюкаслской болезни является серьезной преградой для обмена генетической информацией сельскохозяйственной птицы в разных странах мира.

По классификации Международного эпизоотического бюро (МЭБ) болезнь Ньюкасла считается особо опасным заболеванием птиц и отнесена в список «А» [1]. Она доставляет немало проблем как крупным птицеводческим хозяйствам, так и фермерам и всегда стоит на жестком контроле у ветеринарных специалистов. Вспышки заболевания время от времени возникают во многих регионах. Несмотря на то, что возбудитель болезни Ньюкасла достаточно изучен, известны особенности течения вызываемой им инфекции, проблема ликвидации инфекции остается пока нерешенной. Это связано со способностью вируса к длительной персистенции в организме птицы, возможной вертикальной передачи вируса, высокой устойчивостью его во внешней среде, наличием феномена природной очаговости болезни Ньюкасла и благоприятных условий для распространения инфекции при высокой концентрации поголовья на ограниченной площади [2, 6].

У птиц отмечались угнетение, диарея с водянистыми зеленоватыми фекалиями с примесью крови, тремор, паралич лап и крыльев. При вскрытии трупов птицы обнаружили воспаление слизистых оболочек носа и ротовой полости, полосчатые кровоизлияния на слизистой оболочке пищевода, зоб переполнен жидкими кормовыми массами, слизистая оболочка желудка и кишечника покрыта слизью. На границе железистого и мышечного отделов желудка видны кровоизлияния в виде пояса. Отмечено потемнение гребня и сережек.

Результаты исследования с помощью РГА (инокуляция)

| Проба | Разведение | Количество КЭ | Дата инокуляции | Количество смерти эмбрионов | | | Дата сбора аллантоисной жидкости | РГА | |
|-------|------------|---------------|-----------------|-----------------------------|----------|----------|----------------------------------|------------|----------------|
| | | | | день 1-й | день 2-й | день 3-й | | дата | РГА |
| 1,1 | 1:10 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 0 | 0 | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Отр. |
| 1,2 | 1:100 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 0 | 0 | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Отр. |
| 1,3 | 1:1000 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 0 | 0 | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Отр. |
| 2,1 | 1:10 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 0 | 0 | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Отр. |
| 2,2 | 1:100 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 0 | 0 | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Отр. |
| 2,3 | 1:1000 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 0 | 0 | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Отр. |
| 3,1 | 1:10 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 2 | | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Полож. (1:256) |
| 3,2 | 1:100 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 2 | | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Полож. (1:128) |
| 3,3 | 1:1000 | 2 | 16.01.2017 | 0 | 2 | | 19.01.2017 | 19.01.2017 | Полож. (1:128) |

Для адаптации и репродукции вируса были использованы куриные эмбрионы 9-11-дневного возраста. Аллантоисную жидкость от погибших и живых КЭ проверяли на геммагглютинацию в РГА с куриными эритроцитами – 5%-ная взвесь. Обычно мезогенные штаммы вируса вызывают гибель эмбрионов уже через 60-90 ч. Через 72 ч собирали аллантоисную жидкость из куриного эмбриона и далее проверяли с помощью реакции геммагглютинации (РГА) на способность геммагглютинации куриных эритроцитов. Были использованы три пробы в трех разведениях. Результаты проведенного исследования приведены в таблице 2.

По результатам РГА, указанным в таблице 2, видно, что в пробах 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, 2.3 патогенный вирус не установлен, а в пробах 3.1, 3.2, 3.3 получен положительный результат, что говорит о наличии патогенного вируса, в титрах от 1:128 до 1:256, это подтверждает первоначальный диагноз, вызвавший у птиц болезнь Ньюкасла.

Дальнейшим этапом нашей работы будет проведение филогенетического анализа для идентификации и определения штамма вируса.

Выводы

В результате проведенной экспериментальной работы и анализа полученных данных установлено, что неблагополучная эпизоотическая обстановка по болезни Ньюкасла в приграничной зоне вызывает реальную возможность заноса его возбудителя на территорию КР, что и подтверждают наши исследования, где в трех пробах куриного эмбриона был выявлен вирус болезни Ньюкасла с титром от 1:128 до 1:256.

Библиографический список

1. OIE, 2009. Newcastle disease. OIE Manual of Standards for Diagnostics Tests and Vaccines, in Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals: Mammals, Birds and Bees. Office International des Epizootics, Paris, pp. 576–589, Chapter 2.3.14.

2. Смоленский В.И., Руденко Т.В., Дрыгин В.В. и др. Новые эпизоотологические аспекты ньюкаслской болезни // Матер. IV регион. конф. «Золотое кольцо России», посвящ. пробл. проф. и леч. домашних животных и птиц. – Владимир, 2001. – С. 76-77.

3. Lamb R.A., Collins P.L., Kolakofsky D., Meleiro J.A., Nagai Y., Oldstone M.B.A., Pringle C.R., Rima B.K. Family *Paramyxoviridae*. In: Fauquet C.M., editor. Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses. The Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press; 2005. pp. 655-668.

4. Орынбаев М.Б., Султанкулова К.Т., Керимбаев А.А. и др. Молекулярно-биологические свойства патогенных вирусов болезни Ньюкасла, выделенных на территории Казахстана // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51. – № 2. – С. 255-263.

5. Bogoyavlenskiy A., Berezin V., Prilipov A., et al. 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 // Virus Genes. – 2009. – Vol. 39 (1). – P. 94-101.

6. Miller P.J., Kim L.M., Ip H.S., Afonso C.L. Evolutionary dynamics of Newcastle disease virus // *Virology*. – 2009. – Vol. 391 (1). – P. 64-72.
7. Steward M., Vipond I.B., Millar N.S., Emerson P.T. RNA editing in Newcastle disease virus // *J. Gen. Virol.* – 1993. – Vol. 74 (Pt. 12). – P. 2539-2547.

References

1. OIE, 2009. Newcastle disease. OIE Manual of Standards for Diagnostics Tests and Vaccines, in Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals: Mammals, Birds and Bees. Office International des Epizootics, Paris, pp. 576-589, Chapter 2.3.14.
2. Smolenskiy V.I., Rudenko T.V., Drygin V.V. i dr. Novye epizootologicheskie aspekty nyukaslskoy bolezni // *Mater. IV region, konf. «Zolotoe koltso Ros-sii»*, posvyashch. probl. prof. i lech. domashnikh zhivotnykh i ptits. – Vladimir, 2001. – S. 76-77.
3. Lamb R.A., Collins P.L., Kolakofsky D., Mele-ro J.A., Nagai Y., Oldstone M.B.A., Pringle C.R., Ri-ma B.K. Family *Paramyxoviridae*. In: Fauquet C.M.,

editor. *Virus Taxonomy: The Classification and No-menclature of Viruses. The Eighth Report of the In-ternational Committee on Taxonomy of Viruses.* Elsevier Academic Press; 2005. pp. 655-668.

4. Orynbaev M.B., Sultankulova K.T., Kerimbaev A.A. i dr. Molekulyarno-biologicheskie svoystva patogennykh virusov bolezni Nyukasla, vydelennykh na territorii Kazakhstana // *Selskokhozyaystvennaya biologiya*. – 2016. – T. 51. – № 2. – S. 255-263.
5. Bogoyavlenskiy A., Berezin V., Prilipov A., et al. 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 // *Virus Genes*. – 2009. – Vol. 39 (1). – P. 94-101.
6. Miller P.J., Kim L.M., Ip H.S., Afonso C.L. Evolutionary dynamics of Newcastle disease virus // *Virology*. – 2009. – Vol. 391 (1). – P. 64-72.
7. Steward M., Vipond I.B., Millar N.S., Emerson P.T. RNA editing in Newcastle disease virus // *J. Gen. Virol.* – 1993. – Vol. 74 (Pt. 12). – P. 2539-2547.



УДК 57.012.4+612.465+599.323.45:612.464+615.3

М.М. Сальникова, В.Р. Саитов, Е.А. Колганова, Г.Ш. Закирова, И.Р. Кадиков, К.Х. Папуниди, В.В. Иванов, А.И. Бахтушкина
M.M. Salnikova, V.R. Saitov, Ye.A. Kolganova, G.Sh. Zakirova, I.R. Kadikov, K.Kh. Papunidi, V.V. Ivanov, A.I. Bakhtushkina

УЛЬТРАСТРУКТУРА ПОЧЕК КРЫС ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ АЦЕТАТА СВИНЦА, ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ И ПРИМЕНЕНИИ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

ULTRASTRUCTURE OF RAT KIDNEYS UNDER COMBINED EXPOSURE OF LEAD ACETATE AND IONIZING RADIATION, AND TREATMENT AND PREVENTION MEASURES

Ключевые слова: ультраструктура, крысы, гломерула, эпителиоциты, подоциты, митохондрии, противорадиационный лечебно-профилактический иммуноглобулин.

Проведена оценка комбинированного воздействия ионизирующего излучения и ацетата свинца, а также на фоне подобного влияния испытание эффективности лечебно-профилактических средств. Необратимые альтерации отмечались в митохондриальном аппарате – рез-

кое набухание с разрывами наружной, внутренней или обеих мембран. В группе, которой наряду с техногенными экотоксикантами и ионизирующей радиацией задавали ПЛПИ (противорадиационный лечебно-профилактический иммуноглобулин) и шунгит, клетки имели незначительную степень повреждения. В ядрах преобладал фибриллярный хроматин, просматривались ядрышки. В цитоплазме некоторых клеток много рибосом и полирибосом. Складки базального лабиринта глубокие, с активными митохондриями.