

Мусоев А.М., Майхин К.Т., Отарбаев Б.К., Омарбекова У.Ж., Асанов Н.Г.

ҚАЗАҚСТАН ТЕРРИТОРИЯСЫНЫҢ ОҢТҮСТІК-БАТЫС АЙМАҚТАРЫН ҚҰТЫРЫҚ ІНДЕТТІ БОЙЫНША ЭПИЗООТОЛОГИЯЛЫҚ РЕТРОСПЕКТИВТІ ТАЛДАУ

Аңдатпа

Қазақстан территориясының оңтүстік-батыс аймақтарын құтырық індеті бойынша сандық және географиялық көрсеткіштерін тәуекел факторларымен байланыстыра отырып, аурудың эпизоотологиялық ретроспективті талдауы көрсетілген

Кілт сөздер: құтырық, рабикалық вирус, аймақ, визуализация, індеттанулық жағдай.

Мусоев А.М., Майхин К.Т., Отарбаев Б.К., Омарбекова У.Ж., Асанов Н.Г.

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БЕШЕНСТВУ В ЮГО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Аннотация

В статье приведены результаты исследования ретроспективного анализа эпизоотической ситуации по бешенству с учетом визуализации неблагополучных пунктов и зонирования территории в юго-западном регионе Республики Казахстан

Ключевые слова: бешенство, рабический вирус, зонирование, визуализация, эпизоотическая ситуация.

УДК 578.831.11

Нурходжаев Н.О., Асанов Н.Г., Кожабаев М., Мусоев А.М.

Казахский национальный аграрный университет г. Алматы

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НЕКОТОРЫХ ШТАММОВ ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА

Аннотация

В данной статье представлены результаты изучения биологических свойств двух штаммов вируса болезни Ньюкасла, изолированных от кур содержащегося в частном подворье и одного вируса изолированных от павшего голубя на территории г. Алматы.

Ключевые слова: вирус болезни Ньюкасла, парамиксовирус птиц типа 1, генотип.

Введение

Ньюкаслская болезнь – это вирусное высококонтагиозное заболевание многих видов сельскохозяйственных и диких видов птицы, имеющее тенденцию к панзоотическому распространению и сопровождающееся различными формами течения.

Возбудитель заболевания – вирус ньюкаслской болезни (ВБН, парамиксовирус птиц типа 1) в соответствии с современной классификацией является таксоном рода *Avulavirus*, подсемейства *Paramyxovirinae*, семейства *Paramyxoviridae*, порядка *Mononegavirales* [1].

По данным Б.Т.Стегния, А.П.Гериловича, Д.В.Музыки [2] изоляты вируса НБ, выделенные на территории Украины в период с 1993 по 2007 гг. в виде экстраэмбриональной жидкости от инфицированных куриных эмбрионов: NDV/Dnipro/2007, NDV/WB/19/2006, NDV/WB/22/2007, NDV/Muskovy duck/2005, из этих выделенных изолятов *Muskovy duck/Ukraine/2005* показал 0,7% отличий по анализируемой области сравнении с другими украинскими изолятами и оказался наиболее близким к Бельгийскому изоляту (*Belgium*, выделен в Бельгии в 2004 г.).

В естественных условиях и при экспериментальном заражении восприимчивы к ньюкаслской болезни являются более 200 видов птиц, однако клинические признаки варьируют в широких пределах, от легкого бессимптомного заболевания до системной генерализованной инфекции, способной вызывать в стадах смертность до 100% [3,4,5].

По степени патогенности вируса выделяют четыре группы: везикулярные висцеротропные, везикулярные нейротропные, мезогенные и лентогенные варианты [5].

В настоящее время с позиций эпизоотологической характеристики возбудителя ученые уделяют большое внимание изучению его генетических особенностей вируса. Геном вируса ньюкаслской болезни имеет в своей структуре 6 генов. Наиболее варибельным и показательным с точки зрения молекулярно-эпизоотологического исследования является ген F. Согласно анализу его нуклеотидной последовательности ученые описали 6 генотипов вируса НБ. Они охарактеризованы благодаря различиям в структуре указанного гена в области варибельного участка длиной 340 п.н. [1].

Общепринятым стандартом изучения вирулентности вируса ньюкаслской болезни является оценка индекса патогенности при интрацеребральном заражении цыплят. Ньюкаслской болезнью может быть признана инфекция птиц, вызванная парамиксовирусом птиц 1 серотипа, отвечающая не менее, чем одному критерию: вирус имеет значение индекса патогенности (ICPI) более 0,7 или содержит основные аминокислоты аргинин и лизин в позициях 113-116 в сайте нарезания (F2-белок) и фенилаланина в позиции 117 (F1-белок) [6].

Материалы и методы

Выделенные вирусы из полевого материала проводили по стандартной методике путем инокуляции тканевых гомогенатов в аллантаоисную полость развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ) [7]. Выделение вируса. Вирусовыделение проводили в 10-суточных эмбрионах СПФ-кур (КЭ). Из биологического материала готовили 10% суспензию на фосфатно-буферном растворе (рН 7,2) и вводили в аллантаоисную полость КЭ в объеме 0,2 мл [6]. Эмбрионы, погибшие после 24 ч. инкубации и более, использовали для сбора экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) и проведения дальнейших исследований.

РТГА. Для идентификации изолята ВНБ применяли РТГА с использованием антигенов и гипериммунных сывороток к вирусам гриппа и ньюкаслской болезни птиц производства ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир) и Института зоопрофилактики (IZSVe, Италия).

Определение титра инфекционности вируса НБ. Применяли метод десятикратных последовательных разведений (от 10^{-1} до 10^{-9}). Каждое разведение вируса инокулировали в аллантаоисную полость четырёх КЭ. Титр вируса в исходном материале определяли по методу Кербера и выражали в единицах ЭИД₅₀/см³. Определение индекса патогенности вируса НБ при интрацеребральном заражении. Интрацеребрально каждому из десяти суточных СПФ-цыплят вводили по 0,05 см³ исследуемой вирусосодержащей экстраэмбриональной жидкости в разведении 1:10 на стерильном ФБР. В течение 8 суток эксперимента ежедневно оценивали клиническое состояние каждой из птиц, и присваивали коэффициент: 0 - птица клинически здорова; 1 - птица больна, отмечены признаки заболевания (угнетение, отказ от корма и воды, нарушения деятельности респираторного или пищеварительного трактов, нервной системы); 2 - птица мертва. Погибшим птицам присваивали коэффициент 2 ежедневно в течение 8 дней эксперимента [6].

Индекс патогенности (ICPI) вычисляли по формуле:

$$ICPI = \frac{\sum_{i=1}^8 (B_i * 1 + P_1 * 2)}{8 * N}$$

где B_i - число больных в сутки i ;

P_1 - число погибших в сутки i ;

N - общее количество птиц в эксперименте

В качестве отрицательного контроля использовали 5 суточных СПФ-цыплят, которым интрацеребрально вводили по 0,05см³ стерильного ФБР.

Результаты клинического наблюдения.

Таблица 1 - Идентификация гемагглютинирующих агентов, выделенных от домашних птиц и голубя в РТГА

Иммунная сыворотка	Титр антигемагглютининов к изолятам		
	от «кур»		от «голубя»
	12/14	16/14	24/14
ПМВ-1/Ласота/46	640	640	320
ПМВ-1/курица/Алматы/47/98	1280	640	640
ПМВ-2/Юкейпа/Калифорния/56	<20	<20	<20
ПМВ-3/индюшка/Висконсин/68	<20	<20	<20
ПМВ-4/утка/Гонконг/ДЗ/75	<20	<20	<20
ПМВ-6/утка/Гонконг/199/77	<20	<20	<20
ПМВ-7/голубь/Теннесси/4/75	<20	<20	<20
ПМВ-8/Делавер/1053/76	<20	<20	<20
ПМВ-9/утка/Нью-Йорк/22/78	<20	<20	<20

Таким образом, идентификация проведенная в РТГА с набором диагностических сывороток к девяти серотипам ПМВ птиц позволила отнести три изолята от домашних и синантропных птиц к ВБН. Идентификация в ПЦР праймерами к консервативному участку F-гена ПМВ-1 будет опубликованы в последующих исследованиях.

В результате клонирования на развивающихся куриных эмбрионах методом предельных разведений изолятов ВБН, выделенных от цыплят (12/14,16/14) и голубя (24/14), получены вирусы с гемагглютинирующей активностью 1:64-1:1024 и инфекционностью 6,24 lg ЭИД_{50/0,2}.

Изучены следующие биологические свойства: термочувствительность НА, спектр гемагглютинирующей активности, инфекционность. Данные о термочувствительности НА и инфекционности изолятов ПМВ-1, выделенных в 2014 г представлен в таблице 2.

Таблица 2 - Термочувствительность НА изолятов ПМВ-1 2014г. выделения

исследуемый Штамм	Инфекцион- ность в lg ЭИД _{50/0,2}	Титр вируса				
		До про- гревания	После прогревания при 56 ⁰ С в течение (в минутах)			
			30	60	90	120
ПМВ-1/курица/Алматы/12/14	6,12	6,12	6,12±0,0	6,12±0,0	6,12±0,2	6,12±0,2
ПМВ-1/курица/Алматы/12/14	6,24	6,24	6,24±0,3	6,12±0,0	6,10±0,4	6,10±0,0
ПМВ-1/голубь/Алматы/12/14	5,50	3,2	3,2±0,8	0	0	0

По отношению к температурному фактору из трех исследованных изолятов ПМВ-1, вирусы выделенные от кур существенно не отличались между собой и характеризовались термостабильным НА (12/14, 16/14), поскольку не теряли способности вызывать агглютинацию эритроцитов курицы после прогрева при 56⁰С в течение 120 мин. Изолят 24/14 от голубя уже после 30 мин. прогрева в РГА не взаимодействовал с 0,75% свежими куриными эритроцитами и поэтому отнесен к штамму обладающим термолабильным НА белкам.

Результаты определения спектра гемагглютинирующей активности исследуемых изолятов ВБН с эритроцитами различных видов животных приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Спектр гемагглютинирующей активности изолятов ПМВ-1 2014 г

Изолят	Титр гемагглютинирующей активности вирусов с эритроцитами					
	кур	морской свинки	барана	КРС	мыши	лошади
ПМВ-	6,0±0,8	6,3±0,4	4,7±0,0	5,8±0,2	3,0±0,1	0

1/курица/Алматы/12/14						
ПМВ-1/курица/Алматы/16/14	5,8±0,4	5,0±0,3	4,6±0,4	5,1±0,3	4,4±0,6	0
ПМВ-1/голубь/Алматы/24/14	4,6±0,6	4,2±0,4	4,5±0,2	4,0±0,4	2,2±0,2	0
Примечание – приведены среднегеометрические титры вирусов в log ₂						

Из таблицы 3 видно, что штаммы ВБН как и ожидалось, не взаимодействовали с эритроцитами лошади и значительно варьировали по степени авидности к эритроцитам других пяти видов животных.

Таблица 4 - Результаты наблюдения за цыплятами после интрацеребрального заражения

Исследуемый изолят	Клиническое состояние птицы	Период наблюдения, сут.								ICPI
		1	2	3	4	5	6	7	8	
ПМВ-1/курица/Алматы/12/14	здоровые	10	10	6	0	0	0	0	0	1,2
	больные	0	0	4	8	0	0	0	0	
	павшие	0	0	0	2	10	10	10	10	1,21
ПМВ-1/курица/Алматы/16/14	здоровые	10	10	5	0	0	0	0	0	
	больные	0	0	5	6	2	0	0	0	0,91
	павшие	0	0	0	4	8	10	10	10	
ПМВ-1/голубь/Алматы/24/14	здоровые	10	10	7	6	3	2	2	1	
	больные	0	0	3	4	7	4	2	1	
	павшие	0	0	0	1	2	4	6	8	

Выводы

При внешнем осмотре инфицированных цыплят и голубей отмечали такие признаки заболевания, как угнетение, отказ от корма и воды, парезы конечностей и параличи; при вскрытии наблюдали гиперимею тканей и кровоизлияния в головном мозге, кишечнике, отечность легких. Инкубационный период длился не менее 2 сут, и все цыплята и голуби погибли в течении 4-5 сут. эксперимента. Как видно из представленных данных, индекс патогенности имел значение 1,20 для изолята ПМВ-1/курица/Алматы/12/14, 1,21 для изолята ПМВ-1/курица/Алматы/16/14, и 0,91 для изолята ПМВ-1/голубь/Алматы/24/14, что позволило идентифицировать изоляты как вирулентный вирус ньюкаслской болезни.

Литература

1. Ujvari, D. Phylogenetic analysis reveals extensive evolution of avian paramyxovirus type 1 strains of pigeons (*Columba livia*) and suggests multiple species transmission / D. Ujvari, E. Wehmann, E.F. Kaleta [et al.] // Virus Res. – 2003. – Vol.96, N 1-2. – P.63-73.
2. Б.Т. Стегний, А.П. Герилович, Д.В. Музыка. Изучение нуклеотидной последовательности варибельной области гена F и филогенетический анализ вируса ньюкаслской болезни // V Международный ветеринарный конгресс по птицеводству – С. 100-101.
3. Биологические свойства вируса ньюкаслской болезни, выделенного в 2010 году из популяции голубей в Кемеровской области / П.И. Репин, И.П. Пчелкина, И.А. Чвала [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2013.-№1. – С. 29-34.
4. A molecular epidemiological investigation of isolates of the variant avian paramyxovirus type 1 virus (PPMV-1) responsible for the 1978 to present panzootic in pigeons / E.W. Aldous, C.M. Fuller, J.K. Mynn, D.J. Alexander // Avian Pathol. – 2004. – Vol. 33, N 2. – P. 258-269.

5. Structural comparison of the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein between virulent and avirulent strains of Newcastle disease virus / T. Toyoda, T. Sakaguchi, K. Imal [et al.] // Virology. – 1987 – Vol. 158. – P. 242-247.

6. Newcastle disease // O.I.E. Manual of standarts for diagnostic tests and vaccines, adopted 2012.

7. Hu S., Ma H., Wu Y. et al. A vaccine candidate of attenuated genotype VII Newcastle disease virus generated by reverse genetics. Vaccine. 2009; 27 (6): 904-910.

Нурходжаев Н.О., Асанов Н.Г., Кожабаяев М., Мусоев А.М.

НЬЮКАСЛ АУРУЫНЫҢ КЕЙБІР ВИРУС ШТАММДАРЫНЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ

Аңдатпа

Бұл мақалада жеке аулада орналасқан тауықтан оқшауланған Ньюкасл ауруының екі штаммының және құлдыраған көгершіннің биологиялық қасиеттерінің нәтижелері келтірілген.

Кілт сөздер: Ньюкасл ауруының вирусы, құс парамиксовирусы тип 1, генотип.

Nurkhojayev N.O., Asanov N.G., Kozhabayev M., Mussoev A.M.

STUDY OF THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF SOME NEW CASTLE DISEASE VIRUS STRAINS

Annotation

In this article presents the results of studying the biological properties of two strains of Newcastle disease isolated from chickens contained in a private farmstead and one isolated from a fallen pigeon in the city of Almaty.

Keywords: Newcastle disease virus, paramyxovirus of birds of type 1, genotype.

UDC 616.98:636(574)

Ozbekbay N.B., Otarbaev B.K., Kassymov Y.I., Tleuzhanov D.K., Baygazanov A.

Kazakh national agrarian university, Almaty

STUDIES ON RISK OF BRUCELLOSIS IN DAIRY FARMS

Abstract

The article presents results on monitoring of veterinary and sanitary regimes for brucellosis in some dairy complexes of the Almaty region. We also estimated risk of developing the disease.

Keywords: brucellosis, monitoring, control points, veterinary-sanitary regime, risk level, dairy farm.

Introduction

A dairy cattle breeding is one of the leading branches of agricultural production. At present, not only the increase in the productivity of cows, but also the quality of milk, is relevant. In this regard, the optimization of veterinary and sanitary regimes in dairy farms is of great importance. Preventive work on dairy farms should rely mainly on strict adherence