

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**

**КЫРГЫЗСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА**

Диссертационный совет Д.06.16.538

На правах рукописи  
**УДК 619:578:831.11**

**АБДЫЛДАЕВА РОЗА ТЫНАЙБЕКОВНА**

**ДИАГНОСТИКА И ПРОФИЛАКТИКА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА  
В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ**

06.02.02 - ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология

**Автореферат**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**БИШКЕК – 2017**

**Диссертационная работа выполнялась** в лаборатории по изучению болезней птиц, эпизоотологии, вирусологии и биотехнологии Кыргызского научно-исследовательского института ветеринарии им. А. Дуйшеева (КНИИВ) и на базе неблагополучных по болезни Ньюкасла хозяйств Кыргызской Республики.

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, старший научный сотрудник  
**Акматова Эльмира Казакбаевна**

**Официальные  
оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Доолоткельдиева Тинатин Доолоткельдиевна**  
кандидат ветеринарных наук  
**Султаналиев Нуруланбек Кенешович**

**Ведущая организация:** **Казахский национальный аграрный университет**

Защита диссертации состоится «27» апреля 2017 г. в 14.00 на заседании диссертационного совета Д.06.16.538 при Кыргызском национальном аграрном университете имени К.И. Скрябина (КНАУ) по адресу: 720005, г. Бишкек, ул. О. Медерова, 68.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина по адресу: 720005, г. Бишкек, ул. О. Медерова, 68. Электронный адрес сайта: <http://knau.kg/ru/>

Автореферат разослан «\_\_» марта 2017 года.

**Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат ветеринарных наук, доцент**

**Крутская Е.Д.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Птицеводство в Кыргызской Республике является быстро развивающейся отраслью сельскохозяйственного производства и представлено промышленными птицефабриками, фермерскими и частными подсобными хозяйствами.

Яйцо и мясо птицы являются диетическими продуктами, удовлетворяющими потребность людей в белках. Проблема дефицита белковых продуктов во многих странах в значительной степени решается путем развития промышленного птицеводства. Вместе с тем увеличение производства продукции птицеводства возможно при условии повышения продуктивности птицы и ее сохранности, что в значительной степени зависит от благополучия отрасли по инфекционным заболеваниям.

К наиболее часто регистрируемым в Кыргызстане инфекционным болезням птиц относятся: болезнь Ньюкасла, инфекционный ларинготрахеит, инфекционный бронхит и др.

Среди инфекционных болезней, наносящих значительный экономический ущерб птицеводству, особое место занимает болезнь Ньюкасла (БН) из-за ее высокой контагиозности. При острой форме болезни летальность птицы может достигать 100%, яйценоскость снижается на 45-60%. Резервуаром возбудителя могут быть перелетные дикие птицы, а также домашние куры, утки, гуси [С.К. Старов, 2003].

Болезнь Ньюкасла (БН) по определению МЭБ входит в перечень особо опасных инфекций и экономически значимым заболеваниям птиц, имеющим тенденцию к трансграничному распространению, по которой ведется постоянный мониторинг эпидемиологической ситуации в мире и поэтому болезнь Ньюкасла включена МЭБ в список «А» особо опасных болезней [И.А. Бакулов, 2008].

Большие затраты связаны с проведением жестких карантинных мероприятий и уничтожением больной и подозрительной на заболевание птицы. В птицеводческих хозяйствах с поточной системой содержания птицы инфекция может носить стационарный характер. Это объясняется длительным сохранением вируса во внешней среде, вирусоносительством у переболевших кур. В активном состоянии вирус может сохраняться в организме клещей, обитающих в птичниках [С.К. Старов, 2003].

Известно, что возбудитель болезни Ньюкасла и особенности течения вызываемой им инфекции достаточно изучены, однако проблема ликвидации инфекции остаётся пока нерешенной.

Несмотря на применяемые специфические мероприятия в птицеводстве сохраняется реальная угроза возникновения БН, что вынуждает вакцинировать все поголовье птицы против этой инфекции в обязательном порядке.

В последние годы в иммунопрофилактике болезней птиц достаточно широко применяют иммуномодулирующие вещества интраназальным

методом в сочетании с вакцинными препаратами с целью повышения их иммуногенности [Б.Ф. Бессарабов, 2006].

В Кыргызстане болезнь Ньюкасла среди птиц регистрируется с 1985 года. Последняя научно-исследовательская работа, посвященная изучению болезни Ньюкасла, проводилась в 1988–1990 гг. (Исаков М.И., Беляков А.И., Герштейн В.И., Батталов М.С., Кормилицина С.М., Белеков Т.Б.).

В 2009-2016 гг. по данным Государственной инспекции по ветеринарной и фитосанитарной безопасности при Правительстве Кыргызской Республики (ГИВФБ при ПКР) в республике регистрировались неблагополучные пункты по болезни Ньюкасла. В отдельных регионах республики были случаи массового падежа заболевших птиц с невыясненной этиологией.

Современная проблема заболеваемости и профилактики болезни Ньюкасла на научно-практическом уровне в Кыргызской Республике не изучалась. В связи с этим целью нашей работы было провести эпидемиологический мониторинг и диагностику болезни Ньюкасла на территории Кыргызской Республики среди птиц, выявить возбудителя болезни Ньюкасла современным молекулярно-биологическим методом и разработать наиболее эффективные меры профилактики данной болезни.

В настоящее время для диагностики инфекционных болезней используют различные лабораторно-инструментальные методы, среди которых важнейшее место занимают молекулярно-биологические методы, позволяющие выявить ДНК или РНК возбудителя заболевания и установить, таким образом, этиологический диагноз.

**Связь темы диссертации с крупными научными программами, основными научно-исследовательскими работами, проводимыми научными учреждениями.** Работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы Кыргызского научно-исследовательского института ветеринарии имени А. Дуйшеева по теме: «Эпизоотологический мониторинг вирусных болезней птиц» (2010-2014 гг.), номер государственной регистрации 0005817.

**Цель и задачи исследования.** Провести эпидемиологический мониторинг и диагностику болезни Ньюкасла на территории Кыргызской Республики и разработать научно обоснованные меры борьбы, включающие иммунопрофилактику птицы против этой вирусной инфекции.

*Для достижения цели предстояло решить следующие задачи:*

- изучить эпидемиологическую ситуацию неблагополучных пунктов по болезни Ньюкасла за 2012-2016 годы;
- идентифицировать возбудителя болезни Ньюкасла с применением молекулярно-биологического метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и выявить специфические антитела IgG с помощью иммуноферментного анализа (ИФА);
- изучить иммунобиологические свойства вируса болезни Ньюкасла;

- изучить сравнительную эффективность разных методов вакцинации птиц;
- разработать методические рекомендации и указания по борьбе и профилактике болезни Ньюкасла.

#### **Научная новизна работы:**

- впервые за последние 30 лет проведен глубокий эпидемиологический мониторинг болезни Ньюкасла, ее диагностика на территории Кыргызской Республики;

- идентифицирован возбудитель инфекции с применением молекулярно-биологического метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) путем выявления высокоспецифичного участка NDV-F характерного для вируса болезни Ньюкасла;

- изучены иммунобиологические свойства вируса болезни Ньюкасла;

- отработан наиболее эффективный метод вакцинации против болезни Ньюкасла.

**Практическая значимость полученных результатов.** Разработанные соискателем методические рекомендации и указания по борьбе, диагностике и профилактике болезни Ньюкасла (утверждены главным ветеринарным инспектором Кыргызской Республики, 2012-2013 гг.) могут служить практическим руководством в профилактической деятельности ветеринарных работников против этой болезни.

Материалы диссертации используются в учебном процессе на кафедре биотехнологии и химии факультета ветеринарной медицины и биотехнологии Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина.

**Экономическая значимость полученных результатов.** Через регулирование методологических основ эпидемиологического мониторинга на территории республики по болезни Ньюкасла и координацию профилактических и оздоровительных мероприятий значительно снизятся риски заболеваемости птицы и повысится эффективность противоэпидемиологических мероприятий при болезни Ньюкасла.

Отработан наиболее эффективный «Спрей» метод вакцинации против болезни Ньюкасла, который обеспечит эффективную защиту против заражения инфекцией.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

- проведение анализа эпидемиологической ситуации по болезни Ньюкасла на территории Кыргызской Республики;
- выделение возбудителя болезни Ньюкасла и идентификация вируса молекулярно-биологическим методом (ПЦР), выявление специфических антител IgG с помощью иммуноферментного анализа (ИФА);
- изучение иммунобиологических свойств возбудителя болезни Ньюкасла;
- изучение наиболее оптимальных и эффективных методов иммунизации птиц;

- разработка методических рекомендаций и указаний по борьбе и профилактике болезни Ньюкасла.

**Личный вклад соискателя.** Диссертантом самостоятельно проведен сбор биологического и патологического материала от больных и павших птиц в неблагополучных пунктах в Кыргызской Республике, а также выделение возбудителя болезни Ньюкасла, лабораторная диагностика с применением молекулярно-биологического метода (ПЦР), выявление специфических антител IgG с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), определение наличия патогенного микроорганизма классическим методом РГА, изучение эффективности методов иммунизации вакцинами «Ла-Сота» и «Н». Изучение иммунобиологических свойств возбудителя болезни Ньюкасла проведено совместно с сотрудниками лаборатории вирусологии и биотехнологии КНИИВ.

**Апробация результатов диссертации.** Основные результаты работы были доложены и обсуждены на научно-практических конференциях Кыргызского научно-исследовательского института ветеринарии им. А. Дуйшеева, Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина; международных научно-практических конференциях государственного университета имени Шакарима, Семей, Казахстан и Алтайского государственного аграрного университета, Алтай, Россия.

**Полнота отражения результатов диссертации в публикациях.** По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе подготовлены и выпущены две методические рекомендации и 1 методические указания.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 116 страницах компьютерного текста и состоит из оглавления, введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы и приложений. Материалы диссертации иллюстрированы 18 таблицами, 28 рисунками. В работе использовано 217 библиографических источников литературы, из них 136 авторов дальнего зарубежья.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Во введении** обоснована актуальность темы исследований, даны краткие сведения о современном состоянии изучаемой проблемы в Кыргызской Республике и в странах ближнего и дальнего зарубежья, что и послужило основанием для проведения научных исследований.

**В главе «Обзор литературы»** изложены и проанализированы научные концепции ведущих отечественных и зарубежных ученых в области диагностики, профилактики болезни Ньюкасла, молекулярной биологии и вирусологии.

**В главе «Материалы и методы исследования»** описываются объекты исследований, использованный методический подход к выполнению исследований.

Работа выполнялась в лаборатории по изучению болезней птиц, эпизоотологии, вирусологии и биотехнологии Кыргызского научно-исследовательского института ветеринарии им. А. Дуйшеева в период 2012-2016 гг.

Материалом для исследований служили сыворотка крови от больных птиц (573 пробы), патологический материал (12 проб), которые отбирались в хозяйствах, неблагополучных по болезни Ньюкасла.

Для анализа эпидемиологической ситуации по болезни Ньюкасла использовались материалы государственной ветеринарной статистики республиканской, зональных, межрайонных районных ветеринарных лабораторий, а также результаты собственных лабораторных серологических, вирусологических и молекулярно-биологических исследований.

Реакция гемагглютинации (РГА) проведена в соответствии с Руководством ВОЗ по диагностике и контролю болезни Ньюкасла (1996).

Для накопления вирусосодержащего материала нами были использованы куриные эмбрионы 9-11-дневного возраста с целью инокуляции вирусосодержащим материалом. Инокулированные яйца каждые 24 часа проверялись на жизнеспособность эмбриона. Яйца, содержащие мертвый эмбрион, помещали в холодильник сроком на 4 дня. Все яйца, включая содержащие живой эмбрион, были охлаждены до +4°C в течение ночи. Из яиц собирали аллантоисную жидкость и проверяли в реакции гемагглютинации (РГА) на его способность гемагглютинации куриных эритроцитов. Качественную оценку РГА проводили по степени агглютинации клеток крови от «+» до «++++».

**Иммуноферментный анализ (ИФА).** В работе использован набор, предназначенный для выявления антител к вирусу болезни Ньюкасла в ИФА IDEXX в сыворотке крови кур и индеек (IDEXX NDV Ab Test for chickens and turkey, Part Number: 99-09263, (5 plates/solid)). Учет результатов проводили визуально и с помощью спектрофотометра «Multiskan FC», США. Анализ и учет проводили согласно приложенной инструкции.

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР).** Идентификацию специфических фрагментов ДНК вируса Ньюкасла в исследуемых образцах, взятых от больных и подозрительных птиц проводили с использованием ПЦР в классическом варианте.

Для выделения РНК использовали RNeasy Mini Kit (50), Qiagen, реагенты для ПЦР, Qiagen, буферы Promega, dNTP Amplisens. Выделение РНК проводили в соответствии с протоколом.

Обратную транскрипцию (ОТ-ПЦР) проводили с использованием набора Quanti Tect Reverse Transcription Kit, Qiagen. Использовали 3 мкл выделенного РНК, 2 мкл gDNA Wipeout Buffer, 7х буфера и 9 мкл деионизированной воды. Инкубацию проводили в течение 2 мин при 42°C.

Аmplификацию проводили со специфическими праймерами олигонуклеотида для амплификации 356 п.н., путем расщепления NDV-F

гена вируса болезни Ньюкасла. Температурно-временной режим каждого цикла ПЦР состоял из 36 циклов и завершающая элонгация при 72 °С в течение 5 мин 1 цикл.

Для детекции полученного ПЦР-продукта, результаты считывали в 2% агарозном геле в гель-документирующей системе Gel Doc XR+, Bio-Rad. Размер ПЦР-продукта после амплификации составлял 356 п.н.

**Индекс интрацеребральной патогенности** вычисляли путем деления суммы баллов на 80 (число наблюдений за 10 цыплятами в течение 8 сут). Для лентогенных штаммов индекс до 0,2, для везикулярных штаммов – больше 1,5. Недостатком данной методики является постоянный период наблюдения – 8 сут. Для определения среднего времени гибели 10-ти сут. эмбрионов, вызванной минимальной летальной дозой (СВГ/МЛД) готовили серию 10-кратных разведений исследуемого вируса от  $10^{-1}$  до  $10^{-10}$ , пять из них ( $10^{-1}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$ ) использовали для заражения 10-ти сут. куриных эмбрионов (КЭ) в аллантоисную полость в объеме по 0,1 мл. Каждым из этих разведений инокулировали по 10 КЭ: по 5 заражали в 8 ч утра и в 16 ч (в общем заражали 50 КЭ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Эпидемиологическая ситуация по болезни Ньюкасла в Кыргызской Республике и в соседних странах

Разведением птицы занимаются птицеводческие фабрики, крестьянские хозяйства и население в личных подсобных хозяйствах.

Численность домашней птицы в республике на конец 2015 г. составляла 5586,2 тыс. голов, на конец 2016 г. 5673,6 тыс. голов.

По классификации Международного эпизоотического бюро (МЭБ) болезнь Ньюкасла считается особо опасным заболеванием и отнесена в список «А». Болезнь Ньюкасла в течение последних 20 лет нанесла громадный экономический ущерб птицеводству всего мира.

По данным МЭБ, в различных регионах Республики Казахстан болезнь Ньюкасла регистрировалась в 2010, 2012 и 2013 гг. Другие страны, граничащие с Кыргызской Республикой, по официальным данным МЭБ являются благополучными по болезни Ньюкасла.

В Кыргызской Республике по данным Государственной инспекции по ветеринарной и фитосанитарной безопасности (ГИВФБ при ПКР) в августе 2009 года были зарегистрированы два неблагополучных пункта по болезни Ньюкасла (псевдочума птиц, болезнь Ньюкасла) в Аламудунском районе Чуйской области. В 2012 году был отобран и исследован патологический материал от павших кур из Сокулукского района Чуйской области (2 очага), в Ошской области было зарегистрировано в 2012 и 2014 гг. по 2 неблагополучных очага (рис. 1).



Проведенные исследования Республиканским центром ветеринарной диагностики и экспертизы (РЦВДиЭ) показали положительные результаты на болезнь Ньюкасла.

Для выявления возбудителя инфекции у больных птиц нами были проведены лабораторные исследования.

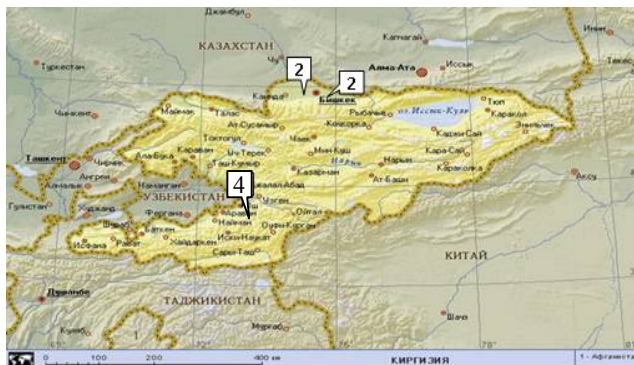


Рис. 1. Очаги инфекции по болезни Ньюкасла в Кыргызской Республике (2009-2014 гг.)

Так была отмечена вспышка заболевания птиц в частном хозяйстве «СоцАгро» Сокулукского района Чуйской области республики. В закрытом помещении заболели куры в возрасте 6-14 месяцев. У больных кур наблюдалось угнетение, отсутствие аппетита, малоподвижность и расстройство функции органов дыхания, кашель, удушье, диарея с водянистыми зеленоватыми фекалиями с примесью крови. Для предварительного анализа патологических материалов на наличие патогенного агента был исследован биологический материал методом реакции гемагглютинации (РГА) (табл. 1).

Таблица 1 – Результаты диагностических исследований патматериала на болезнь Ньюкасла методом РГА, в титрах

№ образца	Исследуемый материал				
	мозг	трахея	легкие	печень	селезенка
1	1:4	1:64	1:128	1:8	1:64
2	1:16	1:32	1:128	1:16	1:128
3	1:16	1:32	1:128	1:8	1:128
4	1:8	1:128	1:256	1:8	1:128
5	1:8	1:32	1:128	1:16	1:128
6	1:16	1:64	1:128	1:16	1:128

Реакцией РГА было установлено, что во всех органах содержались патогенные микроорганизмы, вызвавшие заболевание у птиц, в титрах от 1:4 до 1:128.

В целях предварительной оценки иммунного статуса больных птиц были исследованы сыворотки крови на наличие антител к вирусу БН (табл. 2). Результаты ИФА при исследовании сывороток крови больных кур на наличие специфических антител к вирусу болезни Ньюкасла показали, что у 6 больных кур титр антител варьировал от 1:128 до 1:512. Учитывая тот факт, что птица ранее не была вакцинирована, можно предполагать, что специфические антитела к БН были выработаны на действие патогенного антигена БН. Из таблицы 2 следует, что у самой взрослой птицы (14 мес.) наблюдался высокий титр антител. Следовательно, организм взрослой птицы также неустойчив к воздействию патогенного вируса, как и у молодняка, несмотря на предполагаемый иммунитет во взрослом организме. Следовательно, вирус болезни Ньюкасла может поражать как взрослую птицу, так и молодняк.

Таблица 2 – Результаты исследования сывороток крови в ИФА на наличие антител к вирусу болезни Ньюкасла

№ образца	Возраст, птицы месяцев	Титры антител
1	6	1:128
2	6,5	1:256
3	6	1:256
4	14	1:512
5	10	1:128
6	8	1:128

Для идентификации возбудителя болезни Ньюкасла проведено его молекулярно-биологическое исследование. Вирус был выделен из суспензии легких, мозга, трахеи, печени и селезенки с помощью стандартных методов выделения вируса. Классическим методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) был исследован материал от больных кур для идентификации вируса (рис. 2).

Специфические фрагменты ДНК на уровне 356 п.н. для генома вируса болезни Ньюкасла были выявлены в легких, селезенке и трахее. Выявление специфического фрагмента нуклеиновых кислот в легких свидетельствует о достаточной патогенности вируса. Но при жизни у птиц таких изменений не было выявлено. Вероятно, что вирус не достиг полного развития, и разрушение бронхов еще не произошло. В остальных органах были выявлены геморрагические кровоизлияния и темные пятна на поверхности легких и селезенки.

При исследовании патологических материалов от образца № 2 методом ПЦР специфические фрагменты дали свечение на 356 п.н. для вирусного генома БН в мозге, селезенке и трахее. Больная птица была в угнетенном

состоянии с клиническими признаками инфекции. Также было отмечено изменение в поведении, т.е. частое подергивание головой.

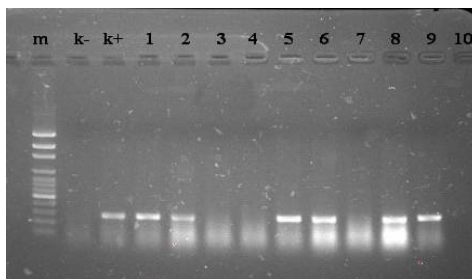


Рис. 2. Результаты ПЦР (образец № 1): m – маркер 100-1000 п.н., K- – отрицательный контроль, K+ – положительный контроль, 1, 2 – легкие, 3, 4 – печень, 5, 6 – селезенка, 7 – мозг, 8, 9 – трахея

Наиболее выраженным изменением у птицы было отсутствие аппетита и угнетение (рис. 3).

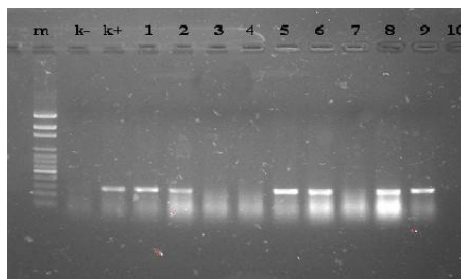


Рис. 3. Результаты ПЦР (образец № 2): m – маркер 100-1000 п.н., K- – отрицательный контроль, K+ – положительный контроль, 1, 2 – мозг, 3, 4 – печень, 5, 6 – селезенка, 7, 8, 9 – трахея

В другом случае при исследовании следующих образцов (рис. 4) свечение ПЦР-продуктов отмечено на уровне 356 пар нуклеотидов относительно маркера и заранее известного положительного контроля. Вирус болезни Ньюкасла был выявлен в мозге, селезенке и трахее. Наличие специфических фрагментов ДНК в мозге объясняет подергивание головой и нарушение координации движения, что приводило к потере равновесия. Развитие вируса в нервных клетках птицы приводит к разрушению нейронов и к атрофии нервных клеток, что проявляется запрокидыванием головы, нарушением координации движения.

В 1,5%-ном агарозном геле под ультрафиолетовыми лучами были выявлены специфические фрагменты, которые дали свечение на 356 п.н. (рис. 4) для вирусного генома вируса болезни Ньюкасла в мозге, селезенке и трахее. В данном образце в печени не обнаружено видимых изменений, поэтому посчитали, что необходимо проведение исследований в ПЦР остальных органов, где зачастую можно обнаружить цельный вирус или его частицы.

Также наличие в сыворотке крови антител к вирусу БН в титрах 1:256 (табл. 2) свидетельствует о том, что вирус развивался в организме птицы достаточно длительное время. Выявление специфического фрагмента нуклеиновых кислот в мозге свидетельствует о достаточной патогенности вируса, что могло повлиять на расстройство движения (потеря равновесия). Но при жизни у птицы таких изменений не отмечено. Вероятно, что вирус не достиг полного развития, и разрушение нейронов еще не произошло.

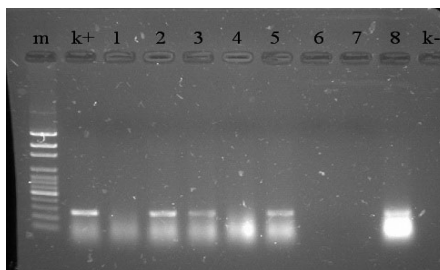


Рис. 4. Результаты ПЦР (образец № 3): m – маркер 100-1000 п.н., К- – отрицательный контроль, К+ – положительный контроль, 1, 2 – мозг, 3, 4, 5 – селезенка, 6, 7 – печень, 8 – трахея

В случае отсутствия нарушений координации движения у больной птицы нами обращалось внимание на иммунный статус животного (рис. 5).

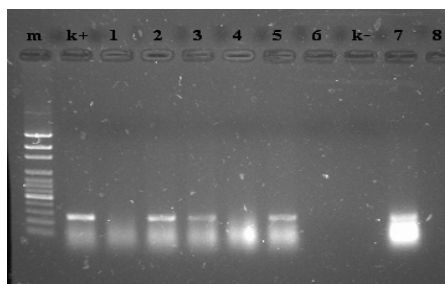


Рис. 5. Результаты ПЦР (образец № 4): m – маркер 100-1000 п.н., К- – отрицательный контроль, К+ – положительный контроль, 1, 2 – мозг, 3, 4 – легкие, 5, 6 – селезенка, 7, 8 – трахея

Как показано на рисунке 5, свечение ПЦР-продуктов отмечено на уровне 356 пар нуклеотидов относительно маркера и заранее известного положительного контроля. Вирусные фрагменты выявлены в мозге, легких, селезенке, трахее. Поражение во внутренних органах птицы были более яркими, но при исследовании методом ПЦР в некоторых образцах выделение вирусной РНК было некачественным, либо в исследуемом материале вирус вообще отсутствовал. В результате исследований патологических материалов от больных птиц методом ПЦР были выявлены специфические фрагменты размером 356 п.н. для вирусного генома вируса болезни Ньюкасла в мозге, легких, селезенке и трахее (рис. 6).

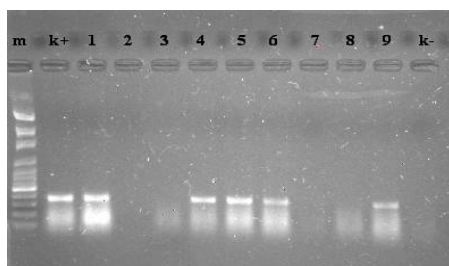


Рис. 6. Результаты ПЦР (образец № 5): m – маркер 100-1000 п.н., К- – отрицательный контроль, К+ – положительный контроль, 1 – мозг, 2, 3 – печень, 4, 5 – легкие, 6, 7 – селезенка, 8, 9 – трахея

В образце № 6 в патологическом материале от павших птиц выявили специфические фрагменты ДНК размером 356 п.н., вирус был обнаружен в мозге, легких, селезенке и трахее (рис. 7). Обнаружение участков нуклеиновых кислот F протеина в данных органах свидетельствует о распространении вируса во внутренних органах, разрушении функциональных особенностей каждого пораженного органа, что привело к ухудшению общего состояния больной птицы.

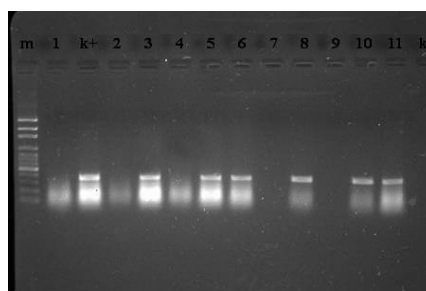


Рис. 7. Результаты ПЦР (образец № 6): m – маркер 100-1000 п.н., К- – отрицательный контроль, К+ – положительный контроль, 1, 2, 3 – мозг, 4, 5, 6 – легкие, 7, 8 – селезенка, 9, 10, – трахея

Исследования патологических материалов от больной птицы показали присутствие амплифицированного участка гена вируса болезни Ньюкасла в головном мозге, легких, селезенке и трахее.

Анализируя результаты исследований специфических фрагментов нуклеиновых кислот вируса болезни Ньюкасла нами сделан обоснованный вывод, что на данной птицеферме циркулировал вирус БН, который присутствовал практически во всех жизненно важных органах больных птиц.

В небольшой по размерам частной птицеферме яичного производства на 1,5 тыс. голов «Ак Булун» Иссык-Кульской области наблюдался падеж птиц. При обследовании хозяйства были выявлены 22 павшие головы. По наблюдениям владельцев болезнь начала проявляться с угнетения, отсутствия аппетита и паралича конечностей кур. Нами были взяты и исследованы сыворотки крови от 28 голов кур, содержащихся совместно с больной птицей.

Установлено, что титр антител у молодой птицы составлял 1:4-1:16. У взрослых (особенно в возрасте 7 месяцев) составлял 1:2-1:8. Вероятно, это связано с более высоким иммунным состоянием организма молодых птиц.

Дальнейшей нашей задачей было исследование больных цыплят на наличие возбудителя и его идентификация. Для этой цели нами был проведен вынужденный убой 4-х больных цыплят. Предварительно была исследована сыворотка крови от больных цыплят на наличие антител к вирусу БН с помощью серологического метода ИФА. Титр антител у больных цыплят составлял от 1:64 до 1:128, что свидетельствовало об активной выработке в их организме антител в ответ на воздействие патогенного вирусного агента. Этот факт говорит о том, что вирус в организме цыплят циркулировал уже не менее 4-6 дней и при отсутствии лечения их организм не смог противостоять патогенному воздействию возбудителя болезни. Для более глубоких исследований на молекулярном уровне от больных цыплят был отобран биоматериал и проведены исследования по идентификации возбудителя болезни. В результате специфические фрагменты, находящиеся на уровне 356 п.н. для вирусного генома вируса болезни Ньюкасла, были выявлены в мозге, легких, селезенке и трахее.

С клиническими признаками болезни Ньюкасла были обнаружены куры и в Нарынской области. В 2-х частных подворьях наблюдался массовый падеж среди вновь завезённой птицы. По сообщению владельцев, болезнь начала проявляться после приобретения кур-несушек с цыплятами из соседнего хозяйства.

От больных и подозрительных птиц из обоих хозяйств были взяты образцы крови (43 пробы) и 2 взрослые птицы для проведения лабораторных исследований на болезнь Ньюкасла.

В результате исследования сывороток крови методом ИФА титр антител к вирусу БН составлял от 1:32 до 1:512, что свидетельствует о возможной циркуляции вируса в организме птиц. Наблюдая 100%-ную смертность среди молодой птицы в данных подворьях с проявлениями поражения центральной нервной системы у взрослой птицы, предположительно был сделан вывод, что в хозяйствах циркулировал высокопатогенный вирус БН. Нами проведено исследование методом ПЦР приготовленных суспензий из органов больных птиц.

Были использованы специфические праймеры для вируса БН, и установлено, что вирусные фрагменты содержались в мозге, печени, селезенке и трахее.

### ***Серологический мониторинг болезни Ньюкасла среди птиц в некоторых регионах Кыргызской Республики***

Следующим этапом наших исследований было изучение эпидемиологической ситуации отдельных районов, где ранее были выявлены вспышки инфекции. Для получения более широкой картины эпидемиологической ситуации были отобраны пробы крови от птиц ряда птицеферм, благополучных по болезни Ньюкасла.

Методом ИФА исследовались сыворотки крови на наличие противовирусных антител БН в разведении 1:100 без раститровки.

В Чуйской области было взято 138 проб крови от невакцинированных птиц, из них 37 проб крови от невакцинированных уток, в Нарынской области было отобрано 106 проб крови от невакцинированных кур, в Таласской области было взято 72 пробы крови от невакцинированных кур. После проведения серологических исследований методом ИФА получены следующие результаты: из Чуйской области из 138 проб – 77 положительных проб крови, из них 18 положительных проб крови у уток. В Нарынской области из 106 проб – 68 положительных проб крови. В Таласской области из 72 проб – 57 положительных проб (табл. 3).

Таблица 3 – Исследование сывороток крови птиц на болезнь Ньюкасла методом ИФА

Районы	Вид птицы	Колич. исслед. проб	Сведения о вакцинации	Положит. проб
Чуйская область				
Иссык-Атинский	куры	47	невакцин.	28
Московский	куры	54	невакцин.	31
Московский	утки	37	невакцин.	18
Нарынская область				
Кочкорский	куры	63	невакцин.	42
Жумгалский	куры	43	невакцин.	26
Таласская область				
Таласский	куры	39	невакцин.	36
Бакай-Атинский	куры	33	невакцин.	21

По результатам исследований было установлено, что более 50% всех случаев были положительными, птица не была вакцинирована. Для сравнения нами также были исследованы сыворотки крови, взятые от уток, результаты показали, что в организме уток циркулируют антитела к вирусу болезни Ньюкасла (рис. 8).

Наблюдениями установлено, что птица, которая содержалась вблизи неблагополучных птицеферм (примерно 500-700 м) подвергалась угрозе заражения вирусом БН. Однако, суровые погодные условия Нарынской области и далекое расстояние от очагов сыграли свою роль в предотвращении крупной вспышки инфекции.

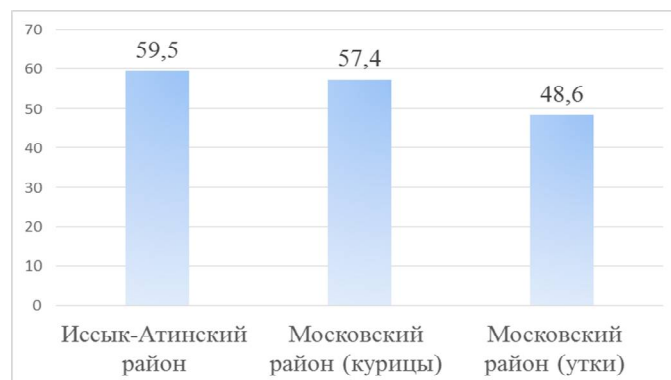


Рис. 8. Наличие положительных случаев по болезни Ньюкасла в Чуйской области (в % к общему количеству исследований)

Выявление в сыворотках крови антител к вирусу БН (рис. 9) свидетельствует о возможном контакте птиц с вирусом, так как птица ранее не была вакцинирована против БН.

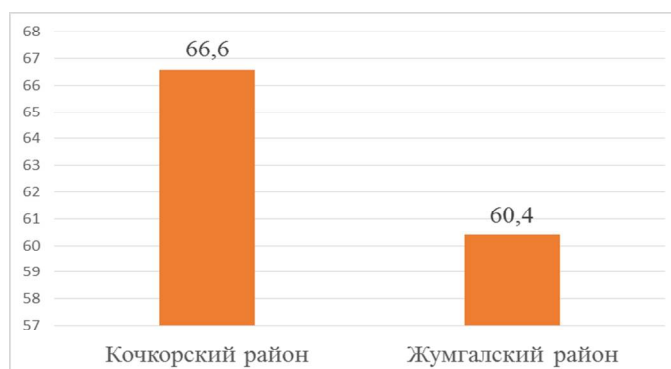


Рис. 9. Количество положительных случаев по болезни Ньюкасла в Нарынской области (в % к общему количеству исследований)

Исходя из достаточно высокого содержания положительных проб в Таласской области (рис. 10) также сохраняется угроза распространения БН по региону.

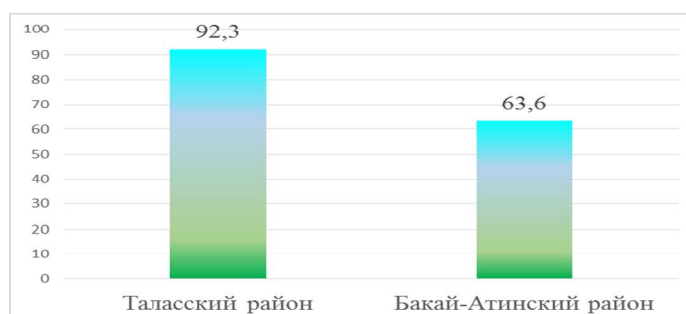


Рис. 10. Количество положительных случаев по болезни Ньюкасла в Таласской области (в % к общему количеству исследований)

По отзывам хозяев в этих хозяйствах наблюдался массовый падеж среди птиц, причина которого не была выявлена.



Для определения степени патогенности вируса БН определяли среднее время гибели куриных эмбрионов в возрасте 10 дней с момента инокуляции (табл. 4).

В опыте инокулировали по 5 яиц со следующей концентрацией вируса  $10^{-1}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-10}$  в 9:00 утра и в 17:00. Использовали равное количество яиц и аналогичную концентрацию вируса. Через каждые 8 часов проводили наблюдение за инокулированными яйцами.

Установлено, что минимальная летальная доза (MLD) = 6.0 – для обоих времен (утреннее, вечернее время заражения).

Среднее время гибели куриных эмбрионов (mean death time, MDT) =  $(56 \cdot 1 + 72 \cdot 4 + 72 \cdot 5) / 10 = 72$  (показывает, что штамм мезогенный согласно Инструкции ВОЗ).

**Минимальной летальной дозой** считали самое большое разведение вируса, вызывающее гибель всех инокулированных КЭ. Среднее время гибели определяли путем деления суммы часов гибели всех КЭ, вызванной минимальной летальной дозой, на число КЭ. Штаммы подразделяются в зависимости от средней времени гибели КЭ, до 60 ч вызывается везикулярными штаммами, среднее время гибели от 61 до 90 ч – мезогенными штаммами, среднее время гибели от 90 и выше 100 ч – лентогенными штаммами.

Таблица 4 – Определение среднего времени гибели куриных эмбрионов (mean death time, MDT)

Разведение вируса, lg	Часов после инокуляции								П/Ж	% падежа
	24	32	40	48	56	64	72	80		
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	0
8	0	0	0	0	0	0	3	0	3/5	60
7	0	0	0	0	1	0	4	0	5/5	100
6	0	0	0	0	0	0	5	0	5/5	100
1	0	0	0	5	0	0	0	0	5/5	100
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	0
8	0	0	0	0	0	0	2	0	2/5	40
7	0	0	0	0	1	0	4	0	5/5	100
6	0	0	0	0	0	0	5	0	5/5	100
1	0	0	0	5	0	0	0	0	5/5	100

\* 0 = нет ни одного случая смерти; 1 etc = число смертей; - = нет никаких замечаний

\*\* D/L = умершие общее число инфицированных

\*\*\* MDT =  $\frac{\text{число умерших в x часов} \cdot \text{раз (x часов)} + (\text{число умерших в y часов}) \cdot \text{раз (y часов)}}{\text{общее число умерших}}$ , 1 etc.

Среднее время гибели куриных эмбрионов, исходя из инструкции ВОЗ, составил 72 часа. Исходя из результатов исследований изолят, выделенный в Кыргызской Республике, относится к мезогенному штамму.

**Определение индекса интрацеребральной патогенности (intracerebral patho-genicity index, ICPI)**

Другим методом определения патогенности и иммуногенности вируса является вычисление индекса интрацеребральной патогенности.

Для выполнения этой задачи однодневным цыплятам в количестве 10 голов были введены интрацеребрально по 500 мкл вируссодержащего материала в разведении  $10^{-1}$  (табл. 5).

Таблица 5 – Определение индекса интрацеребральной патогенности (intracerebral patho-genicity index, ICPI)

Состояние птиц	Дни								Общ. кол-во	Фактор	Всего
	1	2	3	4	5	6	7	8			
Погибшие	0	0	0	0	0	2	7	10	19	2	38
Больные	0	0	0	0	2	6	3	0	11	1	11
Здоровые	10	10	10	10	8	2	0	0	50	0	0
									80		49

$$49/80 = 0.61. \text{ Нейропатический индекс} = 0.61$$

У инокулированных цыплят через 4 дня наблюдали клинические признаки болезни Ньюкасла. Клинические признаки искусственно зараженных цыплят немного отличались от клинических признаков естественно зараженных цыплят. У естественно зараженных цыплят не выявляли ярко выраженных признаков изменения координации движения или каких-либо паралитических эффектов. Искусственно зараженные цыплята проявляли более яркое поражение центральной нервной системы. Вероятно, это связано с условиями содержания птиц, так как они содержались изолированно от окружающей среды и в стерильных условиях.

### ***Изучение наиболее эффективного метода введения вакцин против болезни Ньюкасла***

#### ***Результаты иммунизации цыплят вакциной из штамма «Ла-Сота»***

Для изучения сравнительной эффективности разных методов иммунизации птиц вакциной из штамма «Ла-Сота» нами была проведена вакцинация 90 голов 3-6 дневных цыплят. Вакцину приготовили согласно Временным наставлениям, при этом были соблюдены все ветеринарно-санитарные требования. Птиц разделили на 3 группы по 30 голов и вакцинировали. Цыплят вакцинировали 3-мя методами: «Спрей», «Окулярный» и «Оральный».

Опытами было установлено, что цыплята в день вакцинации имели очень низкий титр антител к вирусу БН  $2-2,46 \log_2$  (рис. 11), что может быть результатом контакта цыплят с больной птицей.

Через 10 дней после вакцинации титр антител у вакцинированных цыплят заметно вырос, наблюдалось изменение общего физиологического состояния. У некоторых цыплят наблюдали вялость и отсутствие аппетита.

На 21-й день развития иммунного процесса титр антител не отличался большим ростом. При введении вакцины методом «Спрей» разница

составила всего 3%, у некоторых цыплят при индивидуальном исследовании наблюдалось снижение титра антител.

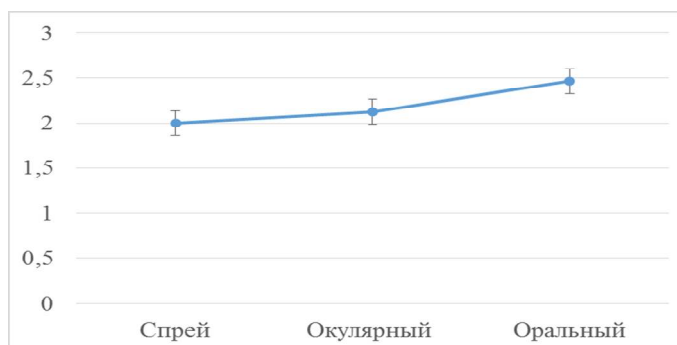


Рис. 11. Титры антител в 0-й день иммунизации (log<sub>2</sub>, p<0.05)

Такая же картина наблюдалась и у цыплят, привитых методами «Окулярный» и «Оральный» (рис. 12). Как видно из рисунка 12, титр антител к вирусу БН у цыплят, вакцинированных методом «Спрей» по сравнению с другими методами выше и составляет  $3,83 \pm 1,4 \log_2$ .

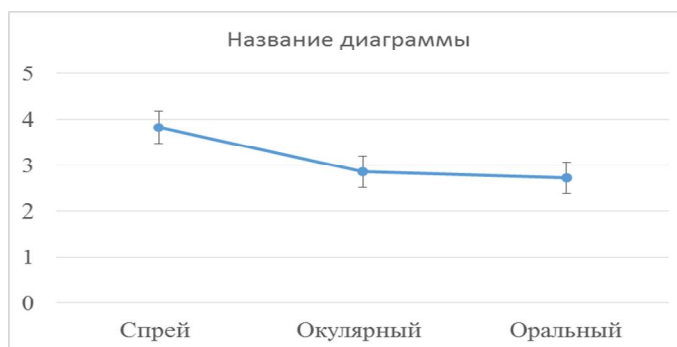


Рис. 12. Титры антител в крови цыплят на 21-й день иммунизации вакциной из штамма «Ла-Сота» (log<sub>2</sub>, p<0.05)

Исходя из вышеуказанных результатов исследований и инструкции к вакцине, мы решили ревакцинировать наших опытных цыплят и продолжить наблюдения за развитием иммунного статуса у иммунизированных цыплят.

При исследовании титра антител к вирусу БН, было установлено, что вакцина сохраняет свои иммуногенные качества в течение 6 месяцев, как указано в инструкции. В связи с понижением титра антител на 180-й день исследования, для поддержания иммунного статуса была проведена ревакцинация (рис. 13).

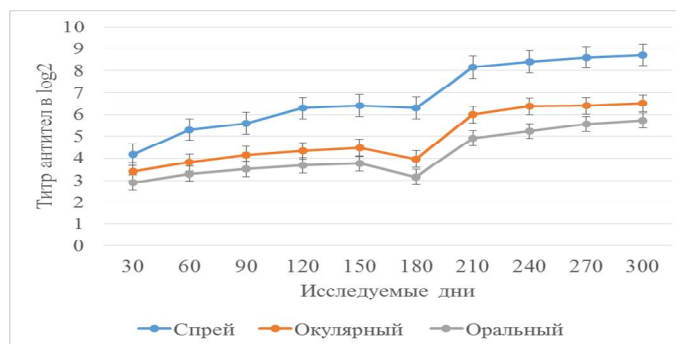


Рис. 13. Титры антител в динамике после иммунизации вакциной из штамма «Ла-Сота» ( $\log_2$ ,  $p < 0.05$ )

На протяжении всего периода исследования титр антител был выше при иммунизации методом «Спрей», который на 300-й день составил  $8,71 \pm 3.2 \log_2$ .

*Результаты иммунизации цыплят вакциной из штамма «Н»*

Для сравнительного изучения действия разных вакцин на иммунный фон нами была испытана вакцина из штамма «Н» на цыплятах в возрасте 6 мес. Перед вакцинацией были взяты пробы крови от цыплят для определения иммунного фона на вирус БН. В зависимости от метода введения вакцины цыплята были разделены на группы и провакцинированы методом «Спрей», «Окулярный» и «Оральный».

Из рисунка 14 следует, что исходный титр антител был низкий, и составлял до 1:8, что характерно для невакцинированных цыплят.

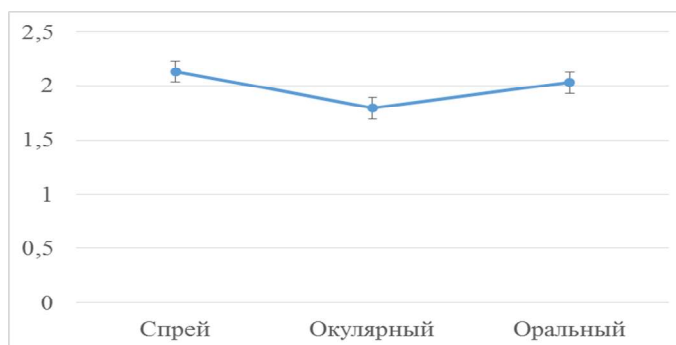


Рис. 14. Титры антител на 0-й день иммунизации вакциной из штамма «Н» ( $\log_2$ ,  $p < 0.05$ )

По инструкции производителя вакцины против БН из штамма «Н», титр антител должен достигать не менее  $8 \log_2$  (1:400) в ИФА более чем в 20% проб сывороток крови, полученных от привитых птиц. Также из инструкции производителя нам известно, что иммунитет к болезни Ньюкасла у птиц, привитых вирус-вакциной из штамма «Н», наступает через 48 часов.

По нашим опытным данным вакцинированные цыплята приобрели достаточный иммунный фон только на 90-е сутки, титр антител составлял более  $8 \log_2$ . Но этот показатель был достигнут только при вакцинации

методом «Спрей». Из рисунка 15 следует, что при оральной вакцинации выработка специфических антител в сыворотке крови в ответ на наличие антигена находилась на низком уровне при самой высокой дозе вакцинации. Методом «Спрей» титр антител составлял выше требуемых  $8 \log_2$  и сохранялся в течение 240 дней после иммунизации.

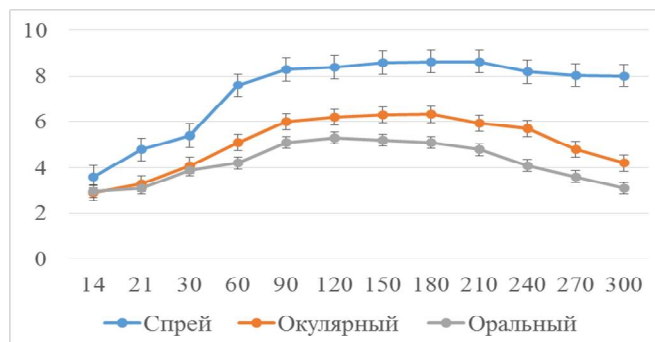


Рис. 15. Титры антител при разных методах вакцинации цыплят против болезни Ньюкасла вакциной из штамма «Н»

Таким образом, разные методы вакцинации цыплят одной и той же вакциной давали различные результаты. Все три метода обеспечивали стабильный рост титров антител, однако, при различных темпах его прироста и в разные возрастные периоды. Лучшие результаты получены при применении вакцин методом «Спрей».

## ВЫВОДЫ

1. На территории Кыргызской Республики с 2012 по 2014 гг. регистрировались случаи заболевания домашней птицы болезнью Ньюкасла.
2. При исследовании патологического материала от больных и подозрительных птиц методом ПЦР были выявлены специфические фрагменты ДНК вируса болезни Ньюкасла в трахее, печени, легких, головном мозге и селезенке. В сыворотке крови методом ИФА установлено наличие антител к вирусу болезни Ньюкасла в титре до 1:512.
3. Локализация вируса болезни Ньюкасла в головном мозге характеризовала его как мезогенный. Выделенный изолят, имеющий 0,61 баллов патогенности и среднее время гибели куриных эмбрионов (mean death time, MDT) 72 часа можно отнести к патогенному изоляту.
4. В результате вакцинации методом «Спрей» наблюдался высокий иммунный фон у птиц, который составлял к 21-му дню  $3,83 \pm 1,4 \log_2$ . После ревакцинации титр антител к 300-му дню составил  $8,71 \pm 3,2 \log_2$ . При использовании «Окулярного» и «Орального» методов введения вакцины титр антител был значительно ниже. Титр антител при иммунизации вакциной из штамма «Н» методом «Спрей» составлял выше требуемых  $8 \log_2$ , и сохранялся до 240-го дня после иммунизации.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для лабораторной диагностики предлагается использовать в качестве патологического материала головной мозг, трахею, легкие, селезенку и печень, так как в этих органах часто локализуется вирус болезни Ньюкасла.
2. Для наиболее эффективного обеспечения защиты от заражения патогенным вирусом болезни Ньюкасла рекомендуется использовать «Спрей» метод введения вакцины в организм птиц.
3. Полученные результаты, описанные в «Рекомендации по профилактике болезни Ньюкасла и птичьего гриппа в Кыргызской Республике и мерам борьбы с ними», «Рекомендации по борьбе с болезнью Ньюкасла», «Методические указания по выделению, культивированию вируса болезни Ньюкасла» рекомендуются для использования ветеринарными врачами, специалистами ветеринарных лабораторий, в учебном процессе на кафедре биотехнологии и химии факультета ветеринарной медицины и биотехнологии КНАУ им. К.И. Скрябина.

## **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Абдылдаева, Р. Т. Диагностика болезни Ньюкасла [Текст] / Р. Т. Абдылдаева, Г. Ж. Акматбекова, А. К. Абдыкеримова // Журнал «Вестник сельскохозяйственной науки». – Бишкек, 2012. – № 7. – С. 143-145.
2. Абдылдаева, Р. Т. Вакцинопрофилактика вирусных болезней птиц [Текст] / Р. Т. Абдылдаева, Э. К. Акматова, Г. Ж. Акматбекова, А. К. Абдыкеримова // Журнал «Вестник сельскохозяйственной науки». – Бишкек, 2012. – № 7. – С. 146-148.
3. Абдылдаева, Р. Т. Болезнь Ньюкасла птиц и меры профилактики [Текст] / Р. Т. Абдылдаева, Э. К. Акматова // Журнал «Вестник сельскохозяйственной науки». – Бишкек, 2012. – № 6. – С. 154-156.
4. Рекомендации по профилактике болезни Ньюкасла и птичьего гриппа в Кыргызской Республике и меры борьбы с ними [Текст] / Р. Т. Абдылдаева, Э. К. Акматова, Р. З. Нургазиев, Ж. А. Атамбекова // Рекомендации. КНИИВ. – Бишкек, 2012. – 23 с.
5. Методические указания по выделению, культивированию вируса болезни Ньюкасла [Текст] / Р. Т. Абдылдаева, Э. К. Акматова, Ж. А. Атамбекова // Методические указания. КНИИВ. – Бишкек, 2013. – 41 с.
6. Абдылдаева, Р. Т. Актуальные вирусные болезни птиц. Болезнь Ньюкасла, ее эпидемиология, диагностика и профилактика [Текст] / Р. Т. Абдылдаева // Журнал «Вестник КНАУ». – Бишкек, 2015. – № 1 (33). Март. – С. 54-59.
7. Абдылдаева, Р. Т. Диагностика болезни Ньюкасла в КР [Текст] / Р. Т. Абдылдаева, Э. К. Акматова // Журнал «Вестник Государственного университета имени Шакарима». – Семей, 2016. – С. 122-126.

8. Абдылдаева, Р. Т. Выделение, идентификация и культивирование вируса болезни Ньюкасла [Текст] / Р. Т. Абдылдаева // Журнал «Вестник КНАУ». – Бишкек, 2016. – № 1 (37). Март. – С. 163-168.
9. Абдылдаева, Р. Т. Иммунологическая эффективность вакцины против болезни Ньюкасла птиц при различных путях ее введения [Текст] / Р. Т. Абдылдаева // Журнал «Вестник КНАУ». – Бишкек, 2016. – № 1 (37). Март. – С. 168-172.
10. Абдылдаева, Р. Т. Диагностика болезни Ньюкасла с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР) [Текст] / Р. Т. Абдылдаева, Э. К. Акматова, Ж. А. Атамбекова, А. А. Камарли // Журнал «Вестник Алтайского ГАУ». – Алтай, 2016. – № 6. – С. 137-141.
11. Абдылдаева, Р. Т. Комплексная диагностика болезни Ньюкасла [Текст] / Р. Т. Абдылдаева, Э. К. Акматова, И. У. Сааданов // Журнал «Вестник Алтайского ГАУ». – Алтай, 2016. – № 7. – С. 149-152.
12. Рекомендации по борьбе с болезнью Ньюкасла [Текст] / Р. З. Нургазиев, Р. Т. Абдылдаева, Э. К. Акматова, Ж. А. Атамбекова // Рекомендации. КНИИВ. – Бишкек, 2013. – 12 с.

**«Кыргыз Республикасында Ньюкасл ылаңын аныктоо жана алдын алуу» темасындагы 06.02.02. – ветеринардык микробиология, вирусология, эпизоотология, микология менен бирге микотоксикология жана иммунология адистиктери боюнча биология илимдеринин кандидаты окумуштуулук даражасын изденип алуу үчүн Абдылдаева Роза Тынайбековнанын диссертациялык жумушунун кыскача**

### **КОРУТУНДУСУ**

**Негизги сөздөр:** Ньюкасл ылаңы, Ньюкасл ылаңдаткычынын РНКсы, полимераздык чынжырлуу реакциясы, иммундук ферменттик аныктоо, геммоглобинди аглютинациялоочу реакциясы, вируленттүүлүк.

**Изилдөөнүн объектиси:** ылаңдаган малдар, патологиялык материал (баш мээси, ички органдар), ылаңдаган малдардын канынын сары суусу.

**Иштин максаты:** республиканын аймактарында эпидемиологиялык абалды аныктоо үчүн Кыргыз Республикасында Ньюкасл ылаңы боюнча мониторинг жүргүзүү жана алынган жыйынтыктар боюнча иммундук алдын алуу ыкмасын даярдоо.

**Изилдөөнүн ыкмалары:** серологиялык, молекулярдык-биологиялык, иммундук алдын алуу, иммундук ферменттик аныктоо, геммоглобинди аглютинациялоочу реакциясы, полимераздык чынжырлуу реакциясы.

**Алынган натыйжалар жана алардын жаңычылыгы:**

Кыргыз Республикасында Ньюкасл ылаңы боюнча эпидемиологиялык жана серологиялык мониторинг жүргүзүлдү.

Алгач ирет Кыргыз Республикасында молекулярдык-биологиялык ыкмасы болгон полимераздык чынжырлуу реакциясын колдонуу менен

Ньюкасл ылаңдаткычы анын NDV-F генин аныктоо аркылуу бөлүнүп чыккан.

Иммундук ферменттик аныктоо ыкмасы менен Ньюкасл ылаңынын ылаңдаткычына мүнөздүү IgG антителолору аныкталып, анын титрлери 1:512 ге жеткен. Ньюкасл ылаңынын ылаңдаткычынын иммундук биологиялык касиеттери аныкталып, ылаңдаткычтын патогендик жана мезогендик өзгөчөлүктөрү тастыкталып, ылаңга каршы күрөшүүгө жана иммундук алдын алууга методикалык көргөзмөлөр жана сунуштар иштелип чыккан.

«Ла-Сота» жана «Н» штаммдарынан жасалган эмдөө каражаттарын колдонуу менен «Чачуу» ыкмасы эксперименттер аркылуу бааланды, ал эми иш жүзүндө анын эффективдүүлүгү далилденген. «Чачуу» эмдөө ыкмасы өндүрүштө колдонууга сунушталган.

**Колдонуу чөйрөсү:** биотехнология, вирусология, ветеринардык практика.

## **РЕЗЮМЕ**

**диссертационной работы Абдылдаевой Розы Тынайбековны на тему: «Диагностика и профилактика болезни Ньюкасла в Кыргызской Республике», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология**

**Ключевые слова:** болезнь Ньюкасла, РНК вируса БН, ПЦР, ИФА, РГА, вирулентность.

**Объект исследований:** восприимчивые птицы, патологический материал (головной мозг, внутренние органы), сыворотка крови инфицированных птиц.

**Цель работы:** проведение эпидемиологического мониторинга болезни Ньюкасла на территории Кыргызской Республики с выяснением эпидемиологической ситуации во всех областях республики и на основании полученных результатов разработать научные рекомендации и методические указания с целью борьбы и иммунопрофилактики болезни Ньюкасла.

**Методы исследования:** серологический, молекулярно-биологический, иммунопрофилактика, иммуноферментный анализ, реакция гемагглютинации, полимеразная цепная реакция.

**Полученные результаты и их новизна:** проведен эпидемиологический и серологический мониторинг по болезни Ньюкасла на территории Кыргызской Республики. Впервые в Кыргызской Республике был идентифицирован вирус болезни Ньюкасла с использованием молекулярно-биологического метода ПЦР путем выявления NDV-F гена вируса. Были выявлены специфические антитела IgG с помощью иммуноферментного анализа (ИФА), где титры антител достигали до 1:512. Изучены



иммунобиологические свойства вируса болезни Ньюкасла, характеризующие вирус как патогенный и мезогенный, разработаны рекомендации и методические указания для борьбы и иммунопрофилактики болезни Ньюкасла. Экспериментально обоснован и оценен метод вакцинации «Спрей» с использованием двух штаммов «Ла-Сота» и «Н», и практически доказана его эффективность. Предложено применять «Спрей» метод вакцинации в производстве.

**Область применения:** биотехнология, вирусология, ветеринарная практика.

## **SUMMARY**

**of the dissertation of Abdylidaeva Roza Tynaibekovna on the theme:  
«Diagnosis and prevention of Newcastle disease in the Kyrgyz Republic» for  
the scientific degree of the candidate of biological sciences on a specialty  
06.02.02 - veterinary microbiology, virology, epizootology, mycology with  
mycotoxicology and immunology**

**Keywords:** Newcastle disease (ND), RNA of NDV, PCR, immunosorbent assay, hemagglutination reaction, virulence.

**Research object:** susceptible birds, pathological material (brain, internal organs) and blood serum of infected birds.

**Research aim:** conducting of the epidemiological monitoring of Newcastle disease on the territory of the Kyrgyz Republic with the clarification of the epidemiological situation in the all regions of the country and on the basis of the received results worked out on scientific recommendations and guidelines to fight and immunoprophylaxis against the Newcastle disease.

**Research methods:** serological, molecular biological, immunoprophylaxis, immunosorbent assay, hemagglutination reaction, polymerase chain reaction.

**The obtained results and their novelty:** conducted an epidemiological and serological monitoring of Newcastle disease in the territory of the Kyrgyz Republic. For the first time in the Kyrgyz Republic has been identified Newcastle disease virus using the molecular biological method PCR by detecting NDV-F gene of the virus, specific IgG antibodies were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), wherein antibody titers reached 1:512. Studied immunobiological properties of Newcastle disease virus, describing the virus as a pathogenic and mesogenic, developed recommendations and guidelines to combat and immunoprophylaxis against Newcastle disease. Experimentally proved and evaluated "Spray" vaccination method with two strains "La Sota" and "H", and practically proved its effectiveness. It is proposed to apply "Spray" method of vaccination in the birds' farms.

**Field of application:** biotechnology, virology, veterinary practice.