

Были выявлены некоторые нежелательные реакции на дерматологические Fitodog, которые не повлияли на результативность лечения и легко купировались. В дальнейшем стоит оценить совместную терапию с другими режимами купаний и удлинить период контроля пациентов, что необходимо в связи со скоростью роста шерсти и периодами разрешения гиперпигментации и других сопутствующих симптомов.

Литература. 1. Elias, P. M. *The skin barrier as an innate immune element* / P. M. Elias // *Semin Immunopathology*. – 2007. – P. 292. 2. Kobayashi, T. *Epithelial-immune crosstalk with the skin microbiota in homeostasis and atopic dermatitis—a mini review* / T. Kobayashi // *Veterinary Dermatology*. – 2021. – P. 147. 3. Samtsov, A. *Topical therapy for pyoderma* / A. Samtsov // *Vestnik dermatologii i venerologii*. – 2020. – P. 59-64. 4. Deng, Z. *Grainyhead-like transcription factors: guardians of the skin barrier* / Z. Deng // *Veterinary dermatology*. – 2021. – P. 152. *Clinical Management of Dermatophytosis and Staphylococcal Pyoderma Co-Infection in A Pitbull Dog* / A. K. Verma, D. D. Afroz, A. Singh [et al.] // *International Journal of Livestock Research*. – 2022. – P. 32-35.

УДК 619:578.831:636.5

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА И ОТБОР ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ

Белькович А.А., Насонов И.В.

РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь

*На основании результатов изучения биологических свойств трех изолятов вируса болезни Ньюкасла, полученных от диких и синантропных птиц, отобран штамм с наибольшей гемагглютинирующей и биологической активностью. После адаптации высокоиммуногенный штамм депонирован в коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» как штамм вируса болезни Ньюкасла «КМИЭВ – V142». **Ключевые слова:** вирус болезни Ньюкасла, птицы, изолят, патогенность, штамм.*

BIOLOGICAL PROPERTIES OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS ISOLATES AND SELECTION OF PRODUCTION STRAINS

Belkovich A.A., Nasonov I.V.

Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S.N. Vyshelesky,
Minsk, Republic of Belarus

Based on the results of studying the biological properties of three isolates of Newcastle disease virus obtained from wild and synanthropic birds, a strain with the highest hemagglutinating and biological activity was selected. After adaptation, the highly immunogenic strain was deposited in the collection of microorganisms of the

*RUE «Institute of Experimental Veterinary Medicine named after S.N. Vyshellessky», as the Newcastle disease virus strain «KMIEV - V142». **Keywords:** Newcastle disease virus, birds, isolate, pathogenicity, strain*

Введение. При болезни Ньюкасла в отсутствие эффективных методов лечения немаловажная роль отводится проведению вакцинации птицы для предупреждения и контроля распространения заболевания. Эффективность иммунизации во многом зависит от вида вакцины и применяемого в вакцине штамма вируса болезни Ньюкасла (ВБН).

В настоящее время для производства вакцин против болезни Ньюкасла применяются мезогенные и лентогенные штаммы вируса, отличающиеся степенью патогенности (вирулентности) для цыплят. По международному соглашению оценка вирулентности ВБН основывается на определении индекса интрацеребральной патогенности. Подтверждается вирулентность вируса молекулярными методами диагностики [3]. Однако для изолятов болезни Ньюкасла от диких и синантропных птиц возможно занижение значения индексов патогенности и искажение результатов молекулярных исследований без проведения предварительных пассажей на цыплятах или куриных эмбрионах [2]. Поэтому для определения реальной патогенности Руководство по наземным животным рекомендует применять метод экспериментальной инфекции восприимчивых видов естественным путём (например перорально-назальным) статистически значимого количества птиц [3].

Согласно требованиям к производственным и контрольным штаммам вируса болезни Ньюкасла (ВБН) для приготовления диагностических препаратов и вакцин, штамм ВБН должен культивироваться в развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ) сохраняя фиксированные показатели вирулентных свойств в течение не менее 10 пассажей. Штамм должен обладать определенной инфекционной активностью, антигенными свойствами и иммуногенностью. Также штамм должен быть устойчив к реверсии в сторону вирулентности у естественно восприимчивых хозяев на протяжении 6 последовательных пассажей испытываемого штамма вируса на этих объектах [1].

Целью исследования явилось изучение биологических свойств изолятов вируса болезни Ньюкасла, полученных в отделе болезней птиц РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского», и отбор производственных штаммов для производства инактивированной вакцины.

Материалы и методы исследований. Подготовку материала и выделение вируса осуществляли на РКЭ 9-11 инкубации в соответствии с ГОСТ 25587-83. Изоляты с титром не ниже 1:16 использовали для идентификации в реакции торможения гемагглютинции (РТГА) с положительной сывороткой к вирусу болезни Ньюкасла производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (РФ).

Определение гемагглютинирующего титра вируса проводили в реакции гемагглютинации (РГА) с 1 % взвесью эритроцитов кур.

Определение инфекционной (биологической) активности вируса проводили по общепринятой методике титрованием на СПФ (свободных от патогенной флоры) эмбрионах 9-10-дневной инкубации. По окончании инкубации экстраэмбриональную жидкость (ЭЭЖ) отбирали от каждого эмбриона отдельно и проверяли ее в капельной реакции гемагглютинации (РГА) с 1 % взвесью эритроцитов кур в физиологическом растворе. По

положительной реакции агглютинации определяли наличие вируса. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча и выражали в $Ig \text{ ЭИД}_{50}/\text{см}^3$.

Вирулентность вируса для куриных эмбрионов определяли в соответствии с ГОСТ 25587-83. Среднее время гибели (СВГ) 9-10-суточных эмбрионов кур вычисляли делением суммы часов гибели всех эмбрионов, вызванной минимальной летальной дозой (МЛД) на число эмбрионов. Для везогенных штаммов СВГ составляет до 30-60 ч, для мезогенных – от 60 до 90 ч, для лентогенных – более 90 ч.

При проведении последовательных пассажей на РКЭ для первого пассажа вирус в дозе $0,2 \text{ см}^3$ при разведении 1:100 вводили 10 СПФ-эмбрионам. Эмбрионы инкубировали 120 ч, ежедневно просматривали и учитывали погибших. Через 120 ч живые СПФ-эмбрионы охлаждали в течение 6 ч при температуре $4,0 \pm 2,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Надсадочную жидкость отбирали для титрования и для проведения очередного пассажа.

При проверке стабильности биологических свойств штамма путём проведения последовательных пассажей на цыплятах для первого заражения использовали ЭЭЖ, содержащую адаптированный вирус. На каждый пассаж использовали по 10 цыплят. Вирусосодержащий материал вводили интраназально в дозе $0,3 \text{ см}^3$ на голову. Для последующих пассажей использовали клоакальные и рото-глоточные мазки, взятые на пятый день после инфицирования птицы предыдущего пассажа. На протяжении всего периода испытаний за птицей велось клиническое наблюдение. Факт инфицирования контролировали серологически путём определения титра специфических антител к ВБН.

Определение патогенности для птиц экспериментальной инфекцией при естественном заражении проводили на 10 клинически здоровых 15-дневных цыплятах, полученных из СПФ-яиц. Вирусосодержащий материал вводили на слизистую оболочку глаза и в нос цыпленка в дозе $0,1 \text{ см}^3$ из расчета 100 ЭИД_{50} . За цыплятами вели наблюдение в течение 30 суток.

Определение титров специфических антител к ВБН проводили в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием набора производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в соответствии с Инструкцией по применению.

Результаты исследований. Работа осуществлялась в отделе болезней птиц РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского». В ходе мониторинговых исследований болезни Ньюкасла на территории республики Беларусь вирусологическими исследованиями патологического материала от диких и синантропных птиц получено три гемагглютинирующих изолята. После проверки на бактериальную контаминацию данные изоляты идентифицированы в РТГА как вирусы болезни Ньюкасла (ВБН).

На первом этапе изучали гемагглютинирующую (ГА) и биологическую активность полученных изолятов ВБН. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Поскольку для производства эмбриональных вакцин используется аллантоисная и амниотическая жидкость только от живых эмбрионов, важным параметром для отбора производственных штаммов является определение патогенности для данных биологических объектов. На втором этапе исследований для определения патотипа и вирулентности изолятов для РКЭ вычисляли среднее время гибели эмбрионов (СВГЭ), вызванной минимальной

летальной дозой (МЛД) вируса. Для изолята №1 СВГ составило 88,8 ч при МЛД 10^{-2} разведения исходного вируса, для изолята №2 - 110,4 ч при МЛД 10^{-5} , для изолята №3 - 102,0 ч при МЛД 10^{-4} . На основании среднего времени гибели эмбрионов изолят №1 отнесён к мезогенной группе, а изоляты №2 и №3 – к лентогенной.

Таблица 1 – Перечень изолятов ВБН, полученных при мониторинге.

№ изолята	От кого выделен: вид птицы (отряд)	ГА титр	Биологический титр
1	Чернеть хохлатая (отр. Гусеобразные)	1:64	$10^{4,3}$ ЭИД ₅₀ /см ³
2	Голубь сизый (отр. Голубеобразные)	1:128	$10^{5,8}$ ЭИД ₅₀ /см ³
3	Голубь сизый (отр. Голубеобразные)	1:32	$10^{4,8}$ ЭИД ₅₀ /см ³

Для дальнейшего исследования было решено использовать изолят №2, показавший наибольший гемагглютинирующий титр, биологическую активность и наименьшую патогенность для РКЭ, как наиболее перспективный производственный штамм.

Поскольку изолят №2 выделен от голубя, работа была направлена на дальнейшую адаптацию вируса к СПФ-эмбрионам кур путем многократных последовательных пассажей. Для первого пассажа использовали ЭЭЖ, полученную при первичном изолировании вируса. Степень адаптации вируса к эмбрионам СПФ-кур оценивали путем определения биологической активности вирусосодержащего материала после каждого пассажа. Биологическая активность вируса при первичном выделении на эмбрионах СПФ-кур составляла $5,78 \lg$ ЭИД₅₀/см³ и по мере увеличения количества пассажей имела тенденцию к повышению (таблица 2).

Таблица 2 – Биологическая активность штамма при пассажах на РКЭ

	№ пассажа														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Биологический титр, \lg ЭИД ₅₀ /см ³	5,78	5,74	5,83	6,0	6,33	6,43	6,44	6,5	6,5	6,44	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5

На восьмом пассаже титр вируса достиг $6,5 \lg$ ЭИД₅₀/см³ и незначительно изменялся при последующих пассажах, что свидетельствует об адаптации вируса к данной системе. Подтверждением адаптации вируса к СПФ-эмбрионам также служит увеличение среднего времени гибели до 116,4 ч.

Исходный вирусосодержащий материал и вирусосодержащий материал каждого 5-го пассажа на РКЭ использовали для определения иммуногенности и патогенности для цыплят при естественном заражении (таблица 3).

При определении патогенности исходного изолята для цыплят 15-дневного возраста на 3-4 сутки отмечено появление конъюнктивита и ринита, которые исчезали в течение 3-5 дней, что характерно для лентогенных вирусов. Гибели птицы за период наблюдения не отмечалось. На определенном этапе

последовательных пассажей на эмбрионах СПФ-кур выделенный вирус смог снизить свою патогенность и усилить иммуногенные свойства. По истечении 10 пассажей было отмечено отсутствие патогенности для цыплят 15-дневного возраста. В течение 30 дней у инфицированной птицы не было отмечено клинической формы заболевания. Иммуногенность штамма после 15 пассажа значимо не изменялась.

Таблица 3 – Свойства штамма при пассажах на РКЭ

Биологические свойства	Исходный изолят	№ пассажа		
		5	10	15
Патогенность для 15-дневных цыплят (наличие респираторного и конъюнктивального синдромов)	присутствует	присутствует	отсутствует	отсутствует
Иммуногенность, (титр антител в РТГА через 21 день после заражения, \log_2)	4,7±0,3	4,8±0,29	6,1±0,31	6,5±0,4

С целью проверки стабильности биологических свойств адаптированного штамма проводили 10 последовательных пассажей вируса на СПФ-эмбрионах и 6 последовательных пассажей на цыплятах 14-дневного возраста. Инфекционная активность штамма составляла $6,47 \pm 0,03 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ в течение всех 10 пассажей на СПФ-эмбрионах. После проведения 6 последовательных пассажей на цыплятах, заболевания птицы с признаками, характерными для болезни Ньюкасла отмечено не было, респираторный и конъюнктивальный синдромы отсутствовали. Факт инфицирования подтверждался выработкой специфических антител к ВБН в титрах $6,41 \pm 0,07 \log_2$.

Таким образом, вирус сохранял свои биологические свойства при проведении многократных пассажей на РКЭ и цыплятах, что позволило сделать вывод о получении нового штамма ВБН. Полученный штамм депонирован к коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» как штамм вируса болезни Ньюкасла Newcastle disease virus «КМИЭВ – V142».

Заключение. Гемагглютинирующий изолят №2, полученный от сизого голубя, с наибольшей гемагглютинирующей (128 ГАЕ) и биологической активностью (не менее $10^6 \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$) был адаптирован к РКЭ путём многократных последовательных пассажей. Новый штамм показал низкую патогенность для РКЭ (СВГ РКЭ 116,4ч), 15-дневных цыплят при естественном заражении и высокую иммуногенность. Штамм депонирован к коллекции микроорганизмов РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского» как штамм вируса болезни Ньюкасла Newcastle disease virus «КМИЭВ – V142».

Литература. 1. Насонов, И. В. Методические рекомендации по изучению культуральных, инфекционных, антигенных и генетических свойств производственных и эпизоотических штаммов вируса ньюкаслской болезни

птиц / И. В. Насонов, Н. В. Кныш, Ю. И. Тяпша. - Минск, 2016. – 20 с. 2. Биологические свойства изолятов вируса ньюкаслской болезни, выделенные у голубей в Курской области / П. И. Репин [и др.] // Научный журнал КубГАУ. - 2013. - № 93 (09). – URL : <https://cyberleninka.ru/article/n/biologicheskie-svoystva-izolyatov-virusa-nyukaslskoy-bolezni-vydelennyh-u-golubey-v-kurskoy-oblasti>. - Дата обращения : 09.09.2024. 3. Руководство по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных : Глава 3.3.14. Болезнь Ньюкасла (инфекция вирусом болезни Ньюкасла): Версия, принятая Всемирной ассамблеей делегатов МЭБ в мае 2012 года.- URL: [//rr-europe.woah.org/app/uploads/2021/08/3-3-14.pdf](http://rr-europe.woah.org/app/uploads/2021/08/3-3-14.pdf). - Дата обращения : 20.10.2020.

УДК 619:615.28:636.22

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ МОЛОДНЯКУ МОЛОЧНЫХ КОРОВ

**Блохин А. А., Овсяхно Т. В., Захарова О. И., Яшин И. В.,
Лискова Е.А., Бурова О. А.**

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», г. Нижний Новгород, Российская Федерация

*Проведено исследование по оценке использования антибиотиков ветеринарами в 44 фермах по разведению молочных коров в 12 районах и муниципальных округах Нижегородской области. 63 % опрошенных ветеринарных врачей пояснили, что применяют антибактериальные средства для обеспечения сохранности животных, 21,0 % – с целью обеспечения рентабельности производства и 16,0 % – в целях профилактики болезней. Чуть больше половины опрошенных (52,3 %) заявили, что не используют антибиотики в целях профилактики болезней животных. Результаты этого исследования показывают, что антибиотики широко используются в хозяйствах молочного направления как в терапевтических, так и в профилактических целях. Это создает высокие риски формирования и распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов по пищевой цепи. **Ключевые слова:** болезни молодняка, профилактика, ветеринарные врачи, опрос, применение антибиотиков.*

USE OF ANTIMICROBIALS IN YOUNG DAIRY COWS

**Blokhin A. A., Ovsyukhno T.V., Zakharova O. I., Yashin I. V.,
Liskova E. A., Burova O. A.**

Federal Research Center for Virology and Microbiology, Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute-Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation