

*Тўрмонов С.А.*

**МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО И ВОДНОГО ХОЗЯЙСТВА  
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

*Самаркандский сельскохозяйственный институт*

На правах рукописи

УДК 619:616.576.809.7.636.5

**ДУРДЫЕВ  
ШАКИР КУРАНБАЕВИЧ**

**ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ИММУНОГЕНЕЗ У ПТИЦ,  
ПРИВИТЫХ ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ**

**16.00.03 - ветеринарная микробиология,  
вирусология, эпизоотология, микология и иммунология**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

**диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук**

**САМАРКАНД - 2004**

Работа выполнена в лаборатории болезней птиц Узбекского научно-исследовательского института ветеринарии и птицеводческих хозяйствах северного региона Республики Узбекистан.

**Научный руководитель:**

Доктор ветеринарных наук, Фридун Акмалович Ниязов

**Официальные оппоненты:**

1. Доктор ветеринарных наук, профессор Маматкарим Парманович Парманов
2. Доктор ветеринарных наук, Абдусалом Абдусаттарович Абдусаттаров

**Ведущая организация:**

Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Защита состоится « 15 » апреля, 2004 г. в « 16 » 00 часов на заседании Специализированного совета К 120.34.02 (совет по разовой защите) при Самаркандском сельскохозяйственном институте (703003, г.Самарканд, ул. М.Улугбека, 77).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Самаркандского сельскохозяйственного института

Автороферат разослан « 16 » апреля 2004 г.

Ученый секретарь

Специализированного совета,

кандидат ветеринарных наук

Ибрагим

Ученый Бердиевич Давлатов

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

**Введение.** Успешное развитие птицеводства невозможно без обеспечения надежной охраны его ветеринарно-санитарного благополучия. Ветеринарное обслуживание в современных птицеводческих хозяйствах, на птицефермах, фермерских (дехканских), подсобных и личных хозяйствах направлено на создание оптимальных условий содержания, правильный уход за птицей, полноценное сбалансированное (по протеину, минеральным веществам, макро и микроэлементам) кормление, повышение естественной резистентности с учетом генетической устойчивости к болезням, использование рациональных методов и средств профилактики.

Современная технология выращивания птиц сопряжена со значительными физиологическими нагрузками (B.S.Crook, 1996; I.F.Burke, S.M.Tomas, 1997). В таких условиях различные нарушения в кормлении, содержании птиц, микроклимата, инфекционные заболевания могут привести к возникновению стрессовых ситуаций и как следствие к иммунодепрессии (S.L.Boulton, 1982; П.Х.Годизов, 1989; Ф.А.Ниязов, Р.Н.Коровин, 2000).

Проведение прививок сразу после воздействия стресс-факторов может привести к торможению процесса иммуногенеза, особенно у физиологически ослабленных птиц, снижению общего иммунного фона и как следствие – к уменьшению эффективности вакцинации С.І.Рeel (1996).

Об ингибирующем влиянии инфекционных болезней (колибактериоза, пуллороза-тифа, респираторного микоплазмоза, болезни Гамборо и др.) на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни есть отдельные сообщения авторов (Д.Ф.Осидзе, 1970; А.С.Серебряков, 1970; O.Mamoru et al. 1971; В.М.Аленко и сотр., 1972; И.А.Рахманина, 1977; В.А.Мамчур, К.Н.Христова, 1978; Г.А.Грошева, 1979; А.Г. Резвых, 1981; V.T.Staenescu et al. 1979; Ф.С.Кудрявцев и соавт. 1981).

Ухудшение экологической ситуации прилегающей к зоне Приаралья, требует изучения факторов влияющих на выработку поствакцинального иммунитета к ньюкаслской болезни. Имеются также много не ясных вопросов, касающихся роли диких и синантропных птиц, а также домашних млекопитающих в распространении вируса ньюкаслской болезни.

Все вышеуказанное свидетельствует об актуальности поставленных задач перед ветеринарной наукой и практикой.

**Цель исследований.** Цель работы изучить факторы, отрицательно влияющие на иммуногенез птиц, привитых против ньюкаслской болезни, роль диких и синантропных птиц, домашних млекопитающих в распространении вируса указанной болезни, изыскать наиболее эффективный и экономический метод вакцинации.

Библиотека  
СыСХИ  
ИНВ. № 01-13976

### Задачи исследования.

- определить факторы, отрицательно влияющие на иммуногенез у птиц привитых против ньюкаслской болезни;
- изучить распространение ньюкаслской болезни в северном регионе Узбекистана, в частности Хорезмской области, прилегающей к экологически неблагоприятной зоне Приаралья;
- определить роль диких и синантропных птиц, а также домашних млекопитающих как переносчиков вируса ньюкаслской болезни;
- изучить влияние возбудителей *E.coli*, *S.pullorum gallinarum* и *M.gallisepticum* на формирование иммунитета к ньюкаслской болезни;
- изучить влияние высокой температуры на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни;
- изучить в сравнительном аспекте эффективность разных методов вакцинации на напряженность иммунитета против ньюкаслской болезни.

**Новизна работы.** Впервые обнаружены специфические антигемагглютинины в сыворотках крови белых цапель, ласточки и свиней к вирусу ньюкаслской болезни, установлены новые данные о роли этих видов птиц и млекопитающих в распространении вируса данной болезни в северном регионе Узбекистана, прилегающей к экологически неблагоприятной зоне Приаралья, определено преимущество окулярного метода вакцинации птиц по сравнению с общепринятыми методами, а также отрицательное влияние *E.coli*, *S.pullorum gallinarum* и *M.gallisepticum* и высокой температуры на иммуногенез организма птиц, привитых против этой болезни.

### Научная и практическая значимость результатов исследования.

Практическая ценность работы заключается в том, что:

- в практике птицеводства следует учитывать возможность заноса инфекции и возникновения болезни дикими и синантропными птицами, в том числе мигрирующими в экологически неблагоприятной зоне Приаралья, а также некоторыми видами домашних млекопитающих. Исходя из этих положений рекомендуется принять в птицеводческих хозяйствах все меры, исключая занос вируса ньюкаслской болезни из вне;
- во избежании иммунодепрессивного действия на иммунитет против ньюкаслской болезни не следует допускать заноса в птицеводство возбудителей колибактериоза, пуллороза-тифа и респираторного микоплазмоза.

### Реализация результатов.

По результатам экспериментальных исследований разработаны и рекомендованы в практику следующие нормативно-технические документы;

- «Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактики колибактериоза птиц», утвержденные НТС ГГУВ МСВХ РУз 18 ноября 2000 г.;

– «Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактики респираторного микоплазмоза птиц», утвержденные ГГУВ МСВХ РУз 7 августа 2001г.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- распространение ньюкаслской болезни в северном регионе Республики Узбекистан;
- роль диких и синантропных птиц, а также домашних млекопитающих в распространении вируса ньюкаслской болезни;
- влияние *E.coli*, *S.pullorum gallinarum* и *M.gallisepticum* на формирование иммунитета к ньюкаслской болезни;
- влияние высокой температуры на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни;
- результаты испытания разных методов вакцинации птиц на формировании иммунитета против ньюкаслской болезни.

**Апробация работы.** Основные материалы диссертации доложены на второй республиканской научно-практической конференции "Проблемы изыскания, синтеза и производства препаратов для ветеринарии". – Самарканд, 1999; Международной Юбилейной конференции, посвященной 70-летию УзНИИ каракулеводства и экологии пустынь. – Самарканд, 2000; на заседаниях Ученого Совета УзНИИВ, 1998-2002 гг.; на Международной научной конференции «Achievements of biotechnology for the future of Mankind» 2001. Samar-kand; Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию УзНИИВ, – Самарканд, 2001, – 13-14 сентября; 1-й Международной научной конференции «Актуальные проблемы инфектологии и паразитологии», посвященной 110-летию открытия проф. М.П.Виноградовым сибирской двуустки у человека. – Томск, 2-5 апреля 2001; республиканских научно-производственных конференциях УзНИИКиЭП, – Самарканд, 2001 и 2002; научных семинарах – расширенном заседании лабораторий лекарственных средств и микробиологии НИИ «Восточная медицина». – Самарканд, 2002; заседании кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Самаркандского государственного медицинского института. – 2002; заседании кафедры микробиологии, клиники инфекционных болезней и вирусологии Самаркандского сельскохозяйственного института. – 2002.

**Опубликованность результатов.** Основные положения диссертации изложены в 16 опубликованных научных статьях, в том числе в 6 научных журналах и 2 зарубежных изданиях.

**Структура и объём диссертации.** Общий объём диссертации составляет 128 страниц машинописного текста, она состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов исследований, обсуждения результатов исследований, выводов практических предложений, списка ли-

тературы, включающий 160 источников отечественного, ближнего и дальнего зарубежья, а также приложения на 41 странице.

## СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Глава 1. Материалы и методы исследований

Диссертационная работа выполнялась с 1998 по 2002 г.г. в УзНИИВ и птицеводческих хозяйствах северного региона Республики Узбекистан. Она является фрагментом комплексных исследований, проведенных по проблеме 0.51.09 по государственным и межведомственным программам: по заданию 18.3.1.08. "Усовершенствовать и внедрить системы мероприятий по обеспечению ветеринарно-санитарного благополучия от наиболее распространенных вирусных и бактериальных болезней" и по заданию 2.6.11.06. "Разработать и внедрить эффективные и комплексные системы мероприятий по профилактике и борьбе с болезнями птиц".

Экспериментальная часть работы выполнена в лаборатории болезней птиц УзНИИВ, Шаватской районной и областной ветлабораториях Хорезмской области. Производственные испытания проведены на птицефабриках Республики Узбекистан.

При выяснении распространения ньюкаслской болезни в северном регионе республики и роли домашних млекопитающих, диких и синантропных птиц использованы «Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактики ньюкаслской болезни (псевдочумы) птиц в Узбекистане», утвержденные НТС ГГУВ МСВХ РУз 12 августа 1998 г. и данные ветеринарного отдела.

В исследованиях использовали вирус ньюкаслской болезни штамм Ла Сота, возбудители колибактериоза птиц серогруппы 026,055,078 и 0111; пуллороза-тифа и респираторного микоплазмоза.

При определении видовой принадлежности выделенных возбудителей инфекций руководствовались их дифференциальными признаками, приведенными в соответствии с наставлениями.

Для выделения вируса использовали 245 куриных эмбрионов, полученных из благополучных по заразным болезням птицеводческих хозяйств.

С целью выделения возбудителей микроорганизмов из патматериала использовали питательные среды: мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), среды Эдварда и Хоттингера.

В серологических реакциях: реакцию торможения гемагглютинации (РТГА), сывороточно-капельную реакцию агглютинации (СКРА), реакцию иммуноферментного анализа (ИФА, EL ISA). Было использовано 2113 проб сывоток крови птиц разного возраста и 478 проб крови сельскохозяйственных и домашних животных, 132 диких и 111 синантропных птиц.

Статистическую обработку результатов исследований проводили по Л.А.Воробьеву, И.П.Ашмарину (1962) и М.К.Ворошиловой и соавт. (1963).

## Глава 2. Результаты исследований

### 2.1. Распространение ньюкаслской болезни в северном регионе Узбекистана

Согласно статистическим данным ветеринарной отчетности первые вспышки заболевания были отмечены в 1968 и 1970 г.г. в основном в летние месяцы, но в личных хозяйствах ньюкаслская болезнь регистрировалась и в другие сезоны года.

В 1968 г на Ургенчской птицефабрике при вспышке болезни сотрудниками облветлаборатории впервые был выделен вирус ньюкаслской болезни. Первые заболевания цыплят были зарегистрированы в конце лета, когда пало и вынуждено забито 37,0 тыс. гол. По возрастам павшие птицы составляли: 1-30 дневных пало 7800 гол., 31-60 – 11200 гол., 61-90 – 16500 гол., старше 91 дня – 950 гол., взрослых кур-несушек – 550 гол.

Заболевание протекало с характерными клиническими признаками: высокая температура тела, поражение желудочно-кишечного тракта и нервные явления. Болезнь длилась 25-27 дней и как правило, заканчивалась летально. Вирус легко выделялся в период острой вспышки, а между вспышками, несмотря на то, что возбудитель в стаде сохранялся, выделить вируса не всегда удавалось. В таких случаях в неблагополучных хозяйствах показателем персистенции вирулентного вируса ньюкаслской болезни были высокие титры антигемагглютининов, выявляемые с помощью РТГА. Так при серологических исследованиях 325 сывороток крови больных цыплят и взрослой птицы Ургенчской птицефабрики высокие титры антител (1:4096) обнаружены в 5 цехах.

В последующем данное заболевание в регионе встречается в 1975, 1982, 1994 и 1998 гг. Обращал на себя внимание тот факт, что болезнь неравномерно распределялась на территории различных геоморфологических зон региона. Были случаи неблагополучия в соседнем Каракалпакстане и сопредельной Туркмении.

Во многих случаях предпринимались попытки выделить вирус заражением куриных эмбрионов.

С целью окончательного определения вирулентности выделенного изолята в обл. вет. лаборатории проводили биопробу на неиммунных цыплятах. Зараженных птиц помещали в изолированный бокс лаборатории и наблюдали 10 дней. При наличии эпизоотического штамма изолята птица погибала на 5-10-й день с характерными признаками ньюкаслской болезни. Всего для биопробы было использовано свыше 200 гол цыплят.

Параллельно во всех случаях определяли наличие специфических антител в сыворотках крови больных и подозрительных к заболеванию птиц. Только в течение 1995-2000 гг. в Хорезмской ветлаборатории и УзНИВИ в РТГА было исследовано 1688 проб сывороток крови, принадлежащих 8 птицеводческим хозяйствам. При этом у птиц в птицеводческих хозяйствах Багатского района обнаружены

высокие (1:4096) титры антител, свидетельствующие о персистенции вируса в организме.

Положение еще усугублялось тем, что в хозяйствах регистрировался колибактериоз. Заболевание отмечали в течение года у 15-25-дневных цыплят. Появлению этой инфекции способствовали стресс-факторы, отрицательно влияющие на физиологические барьеры организма: нарушение микроклимата в помещениях, недостаток витаминов и некоторых микроэлементов и использование несбалансированных кормов, при этом цыплята становились вялыми, отказывались от корма, помет жидкой консистенции, желтовато-белого цвета с неприятным запахом.

Проведенными нами исследованиями установлено, что колибактериоз возникает в виде отдельных вспышек или в ассоциации с пуллорозом-тифом или респираторным микоплазмозом. По нашим данным источником инфекции могут быть взрослые куры-бактерионосители или переболевшие цыплята, которые с пометом и мочой выделяют во внешнюю среду большое количество возбудителя, загрязняют корма, окружающие предметы, одежду и обувь обслуживающего персонала.

## **2.2. Роль диких, синантропных птиц, домашних млекопитающих в распространении вируса ньюкаслской болезни**

Для выявления возможных источников инфекции при ньюкаслской болезни проведенные нами исследования на территории севера Республики Узбекистан, в частности Хорезмской области и Каракалпакстане, а также Туркменистане и на берегах реки Аму-Дарья показали, что резервуаром данного вируса являются дикие и синантропные птицы, совершающие длительные межконтинентальные миграции в страны Юго-Восточной Азии и Африки.

С целью установления природной очаговости вируса ньюкаслской болезни, нами исследовались 478 проб сывороток крови домашних млекопитающих и птиц. В результате установлено, что специфические титры антигемагглютининов обнаружены в сыворотках крови свиней - 1:2 (2 пробы), 1:4 (пробы); ворон - 1:2 (1 проба) и 1:4 (1 проба); майн - 1:2 (5 проб), 1:4 (6 проб); диких голубей - 1:2 (8 проб), 1:4 (7 проб) и 1:8 (5 проб); горлинок - 1:2 (5 проб), 1:4 (10 проб) и 1:8 (1 проба); воробьев - 1:2 (2 пробы) и 1:4 (4 пробы); ласточки 1:16 (1 проба); гусей 1:2 (1 проба), 1:4 (1 проба); индюков 1:2 (1 проба) и 1:4 (1 проба); уток 1:2 (2 пробы) и 1:4 (1 проба); индоуток 1:2 (1 проба); кур 1:4 (4 пробы); петуха 1:8 (1 проба); белых цапель 1:2 (1 проба) и 1:4 (1 проба).

Эти данные свидетельствуют о том, что дикие и синантропные птицы и домашние млекопитающие будучи в контакте с вирусом ньюкаслской болезни, переболевают бессимптомно, в результате чего вырабатываются антитела к данной болезни. Следовательно, птицы и некоторые виды млекопитающих яв-

ляются не только переносчиками данного вируса, но и его резервуаром в природе.

### 2.3. Факторы, влияющие на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни

#### 2.3.1. Влияние *Escherichia coli* на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни

В последнее время все чаще отмечается недостаточная эффективность проводимых вакцинаций цыплят, в связи с чем имели место прорывы иммунитета и падеж привитого поголовья.

Сведений, о влиянии *E.coli* на выработку иммунитета птицами к ньюкаслской болезни недостаточны, что побудило нас провести исследования в этом плане.

В первом опыте было использовано 35 цыплят 10-суточного возраста, разделенных на две группы: опытную (20 голов) и контрольную (15 голов). Обе группы цыплят были дважды вакцинированы против ньюкаслской болезни вирусвакциной из штамма Ла Сота с биологической активностью  $10^{-9,25}$  ЭИД<sub>50/мл</sub> в дозе 0,2 мл интраназально.

Цыплятам опытной группы в количестве 20 голов на 2-сутки внутрибрюшинно инъецировали заражающую дозу суточной бульонной культуры *E.coli* в объеме 0,25 мл, содержащей ЛД<sub>50</sub> - 1 млрд м.т. 15 голов цыплят не заражались и служили контролем.

При клиническом наблюдении за зараженными цыплятами отмечалось общее угнетение, снижение аппетита, малоподвижность, усиление жажды, однако в дальнейшем их физиологическое состояние нормализовалось.

Напряженность и продолжительность поствакцинального иммунитета была проверена исследованием сывороток крови в РТГА через 1,2,3 месяца.

Из данного опыта следует, что средние геометрические титры антигемагглютининов сывороток крови цыплят опытной группы во все сроки исследований были ниже контрольных соответственно на 0,8; 2,0; 2,8 и 3,0 лог<sub>2</sub>. т.е. нами установлено, что возбудитель *E.coli* тормозит выработку иммунитета к ньюкаслской болезни.

Во втором опыте было использовано 100 голов цыплят, разделенных на 2 группы: опытную (75 голов) и контрольную (25 голов). Цыплята обеих групп были привиты против ньюкаслской болезни с помощью вирусвакцины из штамма Ла Сота с биологической активностью  $10^{-9,5}$  ЭИД<sub>50/мл</sub> производства Покровского биокомбината в дозе 0,2 мл интраназально. Цыплятам опытной группы была введена, заражающая доза односуточной бульонной культуры *E.coli* в объеме 0,3 мл, содержащей 1 млрд м.т. внутрибрюшинно.

Клиническое наблюдение за опытными и контрольными цыплятами показало, что в группе зараженных отмечалась вялость, сонливость затрудненное дыхание, но исход был благополучным и цыплята остались живы.

Результаты серологических исследований через 1,2 и 3 месяца после вакцинации показали следующее: в опытной группе титры антител были соответственно:  $7,0 \pm 0,1 \log_2$ ;  $6,4 \pm 0,7$  и  $5,8 \pm 0,2$ , в то время как в контрольной -  $7,8 \pm 0,3$ ;  $8,4 \pm 0,6$  и  $8,8 \pm 0,7 \log_2$ .

Следовательно средние геометрические титры антигемагглютининов сывороток крови птиц опытной группы во все сроки исследований были ниже контрольной соответственно на 0,8; 2,0 и 3,0  $\log_2$ , т.е. и во втором опыте нами установлено ингибирующее действие *E.coli* на антителообразование у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни.

На основании изложенного нами были разработаны для внедрения в практику "Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактики колибактериоза птиц", утвержденные ГГУВ МСВТ РУз в 2000 г.

### 2.3.2. Влияние *Salmonella pullorum-gallinarum* на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни

Принимая во внимание тот факт, что литературных данных, относительно влияния возбудителя пуллороза-тифа на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни недостаточно, мы провели лабораторный и производственный опыт, касающийся этой проблемы.

В условиях лаборатории опыт ставили на 50 гол цыплят кросса "Ломан коричневый", разделенных на две группы по 25 гол., полученных из птицефабрики, благополучной по инфекционным заболеваниям.

За неделю до вакцинации опытным цыплятам вводили заражающую дозу суточной культуры *S.pullorum-gallinarum*, равную 1 млрд м.т. в объеме 0,2 мл. внутривенно.

Через трое суток цыплята опытной группы заболели пуллорозом-тифом с характерной клиникой. Два цыпленка пали. Патологоанатомические изменения, наблюдавшиеся при вскрытии, показали, что в целом заболевание было сходно с пуллорозом-тифом, а именно наблюдалась острая картина катаральной пневмонии, гепатит, скопление фибрина в слепых отростках кишечника. Из фекалий больных цыплят была реизолирована исходная культура *S.pullorum-gallinarum*, типичная по своим морфологическим и культурально-биохимическим свойствам.

Цыплята опытной и контрольной групп были вакцинированы в 10-и 20-дневном возрасте против ньюкаслской болезни вирусвакциной из штамма Ла Сота, производства Омского биокомбината с биологической активностью  $10^{9,25}$  ЭИД<sub>50/мл</sub> в дозе 0,2 мл.

У птиц обеих групп через 1,2,3 и 4 месяца была взята кровь для исследования сывороток в РТГА в целью определения напряженности иммунитета к ньюкаслской болезни. Как показали исследования титры антител у опытных цыплят во все сроки исследований были ниже, чем у контрольных соответ-

венно на 1,3; 4,9; 4,0 и 2,4  $\log_2$  т.е. возбудитель пуллороза-тифа ингибирует выработку иммунитета к ньюкаслской болезни.

В другом опыте, проведенном в условиях производства на базе Шаватской ветлечебницы, было взято 100 голов цыплят, разделенных на две группы: опытную (75гол) и контрольную (25гол). За неделю до вакцинации опытным цыплятам вводили внутривентриально заражающую дозу суточной бульонной культуры *S.pullorum-gallinarum*, равную 500 млн м.т. в объеме 0,3 мл.

Через четверо суток инфицированные цыплята заболели пуллорозом-тифом с характерной клиникой. Три цыпленка пали. При патологоанатомическом вскрытии были обнаружены изменения, свойственные данному заболеванию, а именно множественные очаги некроза в печени, сердце, легких серозный перикардит. Почки увеличены, печень перерожден.

Опытные и контрольные цыплята были привиты против ньюкаслской болезни в 10- и 20-дневном возрасте с помощью вирус вакцины из штамма Ла Сота с биологической активностью  $10^{-9,5}$  ЭИД<sub>50/мл</sub> в дозе 0,2 мл интраназально.

Продолжительность и напряженность поствакцинального иммунитета исследовали серологически через 1,2,3 и 4 месяца. Данный опыт, проведенный в условиях производства, показал, что средние титры антител цыплят опытной группы были ниже контрольных соответственно на 0,6; 1,0; 1,8 и 2,0  $\log_2$ , что подтвердило ингибирующее действие *S.pullorum-gallinarum* на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни.

### 2.3.3. Влияние *Mycoplasma gallisepticum* на выработку иммунитета у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни

Предварительно проведенные серологические исследования показали, что птицеводческие хозяйства Республики неблагополучны по респираторному микоплазмозу от 12 до 50%. Сведений относительно влияния данного возбудителя на процесс формирования иммунитета против ньюкаслской болезни недостаточно. В связи с этим нами был проведен опыт по изучению влияния *M.gallisepticum* на выработку иммунитета у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни.

С этой целью был поставлен опыт на 50 гол цыплят 10-суточного возраста. Первая группа в количестве 30 гол после вакцинации вирусвакциной из штамма Ла Сота интраназально в дозе 0,2 мл на вторые сутки была инфицирована заражающей дозой - 500 млн. м.т. в 1 мл культурой *M.gallisepticum* в объеме 0,3 мл, в трахею. Вторая группа в количестве 20 голов была вакцинирована только вирус вакциной из штамма Ла Сота, но не заражалась микоплазмами.

За опытными и контрольными цыплятами вели клиническое наблюдение в течение 60 дней. Ежедекадно брали кровь для исследования сывороток крови в РТГА к вирусу ньюкаслской болезни.

Проведенные серологические исследования показали, что титр антигемагглютининов у цыплят первой группы был на 0,7; 1,1; 1,5; 1,8; 1,9 и 2,0  $\log_2$  ниже, чем у цыплят контрольной группы, значит возбудитель респираторного микоплазмоза отрицательно действует на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни.

На основании полученных данных нами разработаны «Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактики респираторного микоплазмоза птиц», утвержденные ГГУВ МСВХ РУз 7 августа 2001 г. для внедрения в практику птицеводческих хозяйств Республики Узбекистан.

### 2.3.4. Влияние высокой температуры на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни

Изучению влияния экстремальных температур на иммуногенез у птиц посвящено небольшое количество работ. Имеются отдельные сведения о супрессии синтеза антител, индуцированной температурным стрессом у 4-5-недельных цыплят А. James (1991); F. W. Huchzermeyer (1993).

В связи с вышеуказанным нами на базе Шаватской ветлаборатории проведен опыт по изучению влияния высокой и умеренной температуры на выработку поствакцинального иммунитета у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни. Продолжительность опыта была 4 месяца.

С этой целью в опыт было взято 100 цыплят суточного возраста, разделенных на 2 группы.

Первая опытная группа цыплят в количестве 50 голов содержалась при высокой температуре (40,5 – 43,7°C), вторая (контрольная) в том же количестве – при умеренной (23 – 25,6°C) температуре воздуха.

Обе группы цыплят вакцинированы против ньюкаслской болезни с помощью вирусвакцины из штамма Ла Сота Омского завода биопрепаратов с биологической активностью  $10^{-9,5}$  ЭИД<sub>50/мл</sub> в дозе 0,2 мл интраназально.

Цыплят, содержащихся на глубокой подстилке, разместили в отдельные помещения в секциях с плотностью посадки 10 голов на 1 квадратный метр пола. В помещении с опытными цыплятами оборудовали обогреватель, где температура воздуха держалась на уровне 40,5 – 43,7°C.

Результаты наших опытов показали, что цыплята, содержащиеся на глубокой подстилке при высокой температуре, растут сравнительно медленнее, чем в помещении с умеренной температурой.

При серологическом исследовании сывороток крови птиц опытной группы титры антител были на 0,7; 2,1; 1,4 и 1,5  $\log_2$  ниже, чем у птиц контрольной группы.

Такая разница в средних геометрических титрах антигемагглютининов сывороток крови, очевидно, была связана с температурным стрессом, вызванным влиянием на организм птиц высокой температуры. Сохранность молодняка

в опытной группе в среднем составила 93,8%, в контрольной 98%. Следовательно при проведении вакцинации цыплят против ньюкаслской болезни необходимо учитывать ингибирующее влияние высокой температуры.

### **2.3.5. Влияние разных методов вакцинации на напряженность иммунитета у цыплят к ньюкаслской болезни**

В борьбе с ньюкаслской болезнью наряду с общими ветеринарно-санитарными мероприятиями важное значение имеет специфическая профилактика. Однако прививки птиц не всегда дают желаемых результатов. Принятые в настоящее время методы иммунизации трудоёмки, требуют большого количества персонала и времени. В связи с этим усилия ученых и практиков направлены на поиск эффективных и менее трудоемких методов вакцинации против ньюкаслской болезни.

Аэрозольный метод вакцинации является высокопродуктивным, однако при наличии других инфекций, о которых было сказано выше, в птичьем стаде могут быть осложнения в поствакцинальный период.

Одним из перспективных методов вакцинации птицы является окулярный В.С. Fontanilla et al. (1994), однако исследования в этом плане в нашей республике не проводились.

Задачей наших исследований явилось изучение сравнительной эффективности прививок птиц окулярным, интраназальным методами и выпаиванием.

В эксперименте, проведенном в лабораторных условиях, было взято три группы цыплят суточного возраста в количестве 75 голов, разделенных на три группы: одну опытную и две контрольные, по 25 гол в каждой.

Цыплята первой опытной группы в возрасте 10 дней были привиты окулярно вирусвакциной из штамма Ла Сота против ньюкаслской болезни в дозе 4,0 ЭИД<sub>50/мл</sub> в объеме 0,1 мл.

Цыплята второй группы (контроль №1) в том же количестве и возрасте были привиты интраназально в дозе 0,2 мл.

Цыплята третьей группы (контроль №2) в том же количестве и возрасте были привиты выпаиванием аналогичной вакциной в дозе не менее 1 млн ЭИД<sub>50/мл</sub>.

Через 10 дней цыплята всех групп были ревакцинированы соответствующими методами и дозами. При ежедневном клиническом осмотре в течение 10 дней после первой и второй вакцинации у цыплят опытной группы гиперемии и отека конъюнктивы, на которую инокулировали вакцину, не наблюдали.

Спустя 1, 2, 3 и 4 месяца после второй вакцинации брали кровь для исследования сывороток крови в РТГА.

При изучении эффективности окулярного метода прививок цыплят по сравнению с интраназальным и выпаиванием в указанные выше сроки получе-

но следующее: в опытной группе средние геометрические титры антигемагглютининов были равны  $7,6 \pm 0,13 \log_2$ ;  $8,2 \pm 0,14$ ;  $9,0 \pm 0,11$  и  $5,6 \pm 0,8 \log_2$ , в первой контрольной соответственно:  $7,1 \pm 0,18$ ;  $7,6 \pm 0,4$ ;  $8,0 \pm 0,11$  и  $4,0 \pm 0,8$  и во второй контрольной:  $6,8 \pm 0,19$ ;  $7,0 \pm 0,15$ ;  $6,8 \pm 0,4$  и  $3,0 \pm 0,7 \log_2$ .

Таким образом, следует отметить, что при прививках цыплят вирусвакциной из штамма Ла Сота окулярным методом по сравнению с интраназальным методом, средние геометрические титры антигемагглютининов были выше на  $0,5 - 1,6 \log_2$ , а по сравнению с методом выпаивания на  $0,8 - 2,4 \log_2$  выше, т.е. иммунизация птиц против ньюкаслской болезни окулярным методом высокоэффективна и может быть широко внедрена в практику.

## Глава 3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### ВЫВОДЫ

1. Эпизоотическая обстановка по ньюкаслской болезни в северном регионе Республики Узбекистан продолжает оставаться напряженной. Причиной стационарности болезни являются как прямой, при непосредственном контакте с больной птицей, так и косвенный путь через инфицированный корм, оборудование, предметы ухода за птицей, обслуживающий персонал и др.

2. Обнаружены в выворотках крови свиней, ласточки и белых цапель специфические антигемагглютинины к вирусу ньюкаслской болезни в разведениях от 1:2 до 1:16, свидетельствующие о том, что в межэпизоотический период заболевания данный вирус может персистировать в их организме.

3. Установлено ингибирующее действие *E.coli* на антителообразование у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни, при этом титры специфических антигемагглютининов у зараженных цыплят достоверно на  $2,0 - 3,0 \log_2$  были ниже, чем у здоровой птицы.

4. Экспериментальные исследования и данные производственных опытов доказали иммунодепрессивное влияние *S.pullorum-gallinarum* на выработку иммунитета после вакцинации птиц против ньюкаслской болезни, титры антигел у зараженных цыплят снижались на  $1,8 - 2,0 \log_2$  по сравнению с контролем.

5. Показано, что возбудитель респираторного микоплазмоза *M.gallisepticum* отрицательно действует на выработку иммунитета цыплятами, вакцинированными против ньюкаслской болезни: титры антигемагглютининов у инфицированных цыплят были на  $1,9 - 2,0 \log_2$  меньше, чем у не зараженных птиц.

6. При сравнительном изучении влияния разных температур воздуха установлено, что содержание вакцинированных против ньюкаслской болезни цыплят при высокой ( $40,8 - 43,7^\circ\text{C}$ ) температуре воздуха приводит к снижению

титра антигемагглютининов на  $0,7 - 2,1 \log_2$  чем в сыворотках крови привитых цыплят, содержащихся при умеренной ( $23,9 - 25,6^\circ\text{C}$ ) температуре помещений.

7. При сравнительном изучении различных (окулярный, интраназальный и выпаивание) способов иммунизации птиц против ньюкаслской болезни установлено, что при прививках цыплят вирусвакциной из штамма *La Sota* окулярным методом по сравнению с интраназальным, средние геометрические титры антигемагглютининов были выше на  $0,5 - 1,6 \log_2$  ( $P < 0,001$ ), а по сравнению с выпаиванием на  $0,8 - 2,4 \log_2$  ( $P < 0,001$ ) следовательно иммунизация птиц против ньюкаслской болезни окулярным методом высокоэффективна, экономично и может быть широко применена на практике.

### Практические предложения

Результаты исследований вошли в следующие нормативно-технические документы:

1. Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактики колибактериоза птиц, утвержденные ГГУВ МСВХ РУз 18 ноября 2000 г.

2. Рекомендации по диагностике, мерам борьбы и профилактики респираторного микоплазмоза птиц, утвержденные ГГУВ МСВХ РУз 7 августа 2002 г.

- При проведении профилактических прививок цыплят и взрослой птицы против ньюкаслской болезни необходимо учитывать иммунодепрессивное действие *E.coli*, *S.pulorum gallinarum* и *M.gallisepticum*.

- С целью достижения оптимального иммунитета у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни, следует избегать содержания птиц при высокой ( $40,8 - 43,7^\circ\text{C}$ ) температуре в помещениях.

- Рекомендуем применять окулярный метод вакцинации цыплят против ньюкаслской болезни, как наиболее эффективный и экономичный.

### СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ:

1. Ниязов Ф.А., Дурдыев Ш.К. Методы прививок птиц против ньюкаслской болезни // Проблемы изыск., синтеза и производства препаратов для ветеринарии. / Материалы второй республиканской научно-практической конференции. – Самарканд, 1999. с.29-32.

2. Маркова С.И., Ниязов Ф.А., Дурдыев Ш.К., Шукуров Ш.М. О колибактериозе птиц // Узбекистонда кишлок хужалик хайвонлари касалликларига карши кураш ва олдини олиш тадбирлари. – Самарканд, 2000. с.47-52.

3. Маркова С.И., Ниязов Ф.А., Дурдыев Ш.К., Шукуров Ш.М. Изучение свойств эшерихий, выделенных от птиц // Узбекистонда кишлок хужалик хайвонларига карши кураш ва олдини олиш тадбирлари. – Самарканд, 2000. с.52-55.

4. Дурдыев Ш.К. Влияние *E.coli* на выработку иммунитета против ньюкаслской болезни // Узбекистонда кишлок хужалик хайвонларига карши кураш ва олдини олиш тадбирлари. – Самарканд, 2000. с.25-27.

5. Дурдыев Ш.К., Ниязов Ф.А. Профилактика сальмонеллезов птиц // Сельское хозяйство Узбекистана. – Ташкент, 2000. №3. с.23-24.

6. Ниязов Ф.А., Дурдыев Ш.К. Дикие и синантропные птицы аридной зоны Узбекистана – переносчики ньюкаслской болезни // Проблемы пастбищного животноводства и экологии пустынь. "Материалы научно-практической конференции" (6-7 сентября 2002 г. – Самарканд, 2001. с.86-87).

7. Ниязов Ф.А., Исмадова Р.А., Дурдыев Ш.К. Респираторный микоплазмоз кур // Ветеринария. – Самарканд, 2000. №4. с.23-25.

8. Ниязов Ф.А., Дурдыев Ю.К., Шукуров Ш.М. Профилактика и меры борьбы с колибактериозом птиц // Сельское хозяйство Узбекистана. – Ташкент, 2002. №1. с.26-27.

9. Дурдыев Ш.К. Влияние *E.coli* и *Salmonella pullorum gallinarum* на антителообразование у цыплят, вакцинированных против ньюкаслской болезни // Актуальные проблемы инфектологии и паразитологии. / Материалы I Международной юбилейной конференции, посвященной 110-летию открытия проф. К.П.Виноградовым сибирской двуустки у человека. – 2-5 апреля 2000 г. – Томск, 2000. с.117.

10. Дурдыев Ш.К., Ниязов Ф.А. Влияние высокой температуры на выработку иммунитета цыплятами к ньюкаслской болезни // Научное обеспечение ветеринарного благополучия животноводства "Мониторинг распространения и предотвращения особо опасных болезней животных". /Материалы докладов научной конференции, посвященной 10-летию Независимости Республики Узбекистан и 75-летию со дня образования УзНИИВ. – Самарканд, 2001. с.58-59.

11. Ниязов Ф.А., Маркова С.И., Дурдыев Ш.К. Влияние возбудителя пуллороза-тифа птиц на формирование иммунитета к ньюкаслской болезни // Proceeding at the international conference "Achievement of Biotechnology for the future of Mankind June. – 11-14. – Samarkand, 2001. p.32.

12. Вахидова Д.С., Ниязов Ф.А., Дурдыев Ш.К. Факторы, влияющие на выработку иммунитета птицами, вакцинированными против ньюкаслской болезни // Вестник аграрной науки Узбекистана. – Ташкент, 2001. №3 /5/. с.75-77.

13. Ниязов Ф.А., Дурдыев Ш.К. Выявление антител к вирусу ньюкаслской болезни в сыворотках крови сельскохозяйственных животных, диких и синантропных птиц // "Чул чорвачилиги ва экологиясининг долзарб муаммолари мавзуйда ёш олим ва мутахассисларнинг илмий-амалий конференцияси. – Самарканд, 2001. с.152-154.

14. Ниязов Ф.А., Дурдыев Ш.К. Экологические аспекты персистенции вируса ньюкаслской болезни в организме животных и птиц // Узбекский биологический журнал: ФАН. – Ташкент, 2001. №4. с.49-51.

15. Дурдыев Ш.К. Влияние *E.coli* на организм птиц, вакцинированных против ньюкаслской болезни // Ветеринария. – М., 2002. №2. с.25-26.

16. Ниязов Ф.А., Дурдыев Ш.К. Птицы аридной зоны Узбекистана – резервуар вируса ньюкаслской болезни // Чул чорвачилиги махсулотларининг сифатини ва чул экологиясини яхшилашнинг долзарб муаммолари. /Олим ва мутахассисларнинг илмий-амалий конференциясининг материаллари/. – Самарканд, 2002. с.150-152.

Соискатель: \_\_\_\_\_

*Ш.Дурдыев*

### РЕЗЮМЕ

Диссертации Дурдыева Шакира Куранбаевича на тему: «Факторы, влияющие на иммуногенез у птиц, привитых против ньюкаслской болезни» на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.03. – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология и иммунология.

**Ключевые слова:** Ньюкаслская болезнь, иммунитет, дикие и синантропные птицы, *E.coli*, *S.pullorum gallinarum* и *M.gallisepticum*, вакцинация, микроклимат, стресс факторы, гемагглютинация, МПА, МПБ.

**Объекты исследования:** Дикие и синантропные птицы, а также домашние млекопитающие.

**Цель работы:** Изучить факторы, ингибирующие выработку иммунитета при ньюкаслской болезни.

**Методы исследования:** Эпизоотологический и серологический (реакция гемагглютинации (РГА), сывороточно-капельная реакция агглютинации (СКРА), реакция агглютинации (РА), иммуноферментный анализ (ИФА), реакция торможения гемагглютинации (РТГА).

**Полученные результаты и их новизна:** Установлено отрицательное влияние на выработку иммунитета к ньюкаслской болезни возбудителей *E.coli*, *S.pullorum gallinarum* и *M.gallisepticum*, окулярный метод является наиболее эффективным и экономически выгодным, впервые в сыворотках крови белых цапель, ласточки и свиней обнаружены специфические антигемагглютинины к вирусу ньюкаслской болезни.

**Практическая значимость:** В практике птицеводства следует учитывать возможность заноса инфекции и возникновения болезни дикими и синантропными птицами, в том числе мигрирующими в экологически неблагополучной зоне Приаралья, а также некоторыми видами домашних млекопитающих. Исходя из этих положений рекомендуется принять в птицеводческих хозяйствах все меры, исключаящие заноса вируса ньюкаслской болезни из вне. Во избежании иммунодепрессивного действия на иммунитет против ньюкаслской болезни не следует допускать заноса в птицеводство возбудителей колибактериоза, пуллороза-тифа и респираторного микоплазмоза. Следует избегать содержания птиц при высокой (+40,8... +43,7°C) температуры в помещениях. Рекомендует-

САРСХИ  
ИНИС-Ж

а-13976

ся широко внедрять окулярный метод вакцинации, использовать научной новизны работы в учебном процессе.

**Степень внедрения и экономическая эффективность:** Разработки испытаны в лабораторных условиях и установлено повышение уровня иммунного фона в организме цыплят, а также снижена стоимость профилактических процедур.

**Область применения:** Птицеводческие хозяйства, научно-исследовательские лаборатории.

Ветеринария фанлари номзоди илмий даражасига талабгор Дурдиев Шокир Куранбоевичнинг 16.00.03 – ветеринария микробиологияси, вирусологияси, эпизоотологияси, микологияси ва иммунологияси ихтисослиги бўйича «Ньюкасл касаллигига қарши эмланган товуқларнинг иммунитетига таъсир қилувчи омиллар» мавзуидаги диссертациясининг

### ҚИСКАЧА МАЗМУНИ

**Калитли сўзлар:** Ньюкасл касаллиги, иммунитет, ёввойи ва хонаки қушлар, *E.coli*, *S.pullorum gallinarum* ва *M.gallisepticum*, эмлаш, микроклимат, стресс омиллар. гемагглютинация, ГПА, ГПШ.

**Тадқиқот объектлари:** Ёввойи ва хонаки қушлар, уй паррандалари ва сут эмизувчилари.

**Ишнинг мақсади:** Ньюкасл касаллигига қарши иммунитет ҳосил бўлишини сусайтирувчи омилларни ўрганиш.

**Тадқиқот усуллари:** Эпизоотологик ва ссрологик (агглютинация реакцияси, гемагглютинация реакцияси, зардоб-томчили агглютинация реакцияси, иммуноферментли анализ) усуллар.

**Олинган натижалар ва уларнинг янгиллиги:** Парранда организмда *E.coli*, *S.pullorum gallinarum* ва *M.gallisepticum* қўзғатувчиларининг мавжудлиги ньюкасл касаллигига қарши иммунитет ҳосил бўлишини сусайтириши исботланган. Шунингдек, эмлашнинг «қўзга томизиш» (окуляр) усули амалдаги усулларга нисбатан юқори самара бериши аниқланган. Илк бор оққуш, қалдирғоч, ва чўчка организмларида ньюкасл касаллигига қарши специфик гемагглютининлар топилган.

**Амалий ахамияти:** Жўжалар организмда ньюкасл касаллигига қарши оптимал иммунитетга эришиш учун *E.coli*, *S.pullorum gallinarum* ва *M.gallisepticum* нинг иммунодепрессив (сусайтирувчи) таъсирини инobatга олиш зарур. Паррандаларни юқори харорат (+40,8°C, ..., +43,7°C) шароитида асраш салбий омил ҳисобланади. Жужаларни қўзга томизиш (окуляр) усулда эмлаш тавсия этилади.

**Татбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги:** Тадқиқот натижалари лаборатория шароитида синовдан ўтказилиб, жўжалар организмда

иммунитетнинг ортиши ва эмлаш харажатларининг нисбатан камайиши аниқланган.

**Қўлланиш соҳаси:** Паррандачилик хўжаликлари ва илмий лабораторияларда.

## RESUME

Dissertation of Durdiev Shakir Kuranbaevich on a theme "The Factors, impacting on immunogenesis at birds, vaccination against of Newcastle disease".

On competition of a scientific degree of the candidate of veterinary sciences on specialization 16.00.03 – veterinary microbiology, virusology, epizootology, mycology and immunology.

**Key words:** Newcastle disease, immunity, wild and cinantrophy birds, E.coli. S.pullorum gallinarum and M.gallisepticum, vaccination, microclimate, stress the factors, hemagglutination, MPA, MPB.

**Objects of research:** wild, cinantrophy birds and home birds, agricultural animals.

**The purpose of job:** To study the factors, negative development and formation of immunity at Newcastle disease.

**Method of research:** Epizootology and serology (reaction hemagglutination (RGA), serum-capillary reaction agglutinis (SKRA), reaction agglutinis (PA), immune-ferment analysis (IFA), reaction of braking hemagglutination (RBH).

**Received results and their new variants:** Established the negative influence to manufacture immunity to Newcastle disease which make excitement E.coli, S. pullorum gallinarum and M.gallisepticum. And also, proved the advantage of grafted method of vaccination compare to generally excepted the drops to nose and drinking methods.

First specific hemagglutinin was found to below disease in the animals such as white heron, pig and swallow.

**Practical meaning:** With aim reaching the optimal immunity in herons, vaccinated against newcastle illness it is necessary to understand immunedepressive action E.coli, S.pullorum gallinarum and M.gallisepticum it is necessary to avoid the birds which has a temperature (+40,8 c,...,+43,7c) the temperature in close rooms necessary to make grafted method of vaccination.

**The grade of implementing and the economic effect:** The elaboration tried in laboratory condition and fixed increased immunity in organism of heron, and also discount the price of prophylactics procedures.

**The sphere of use:** The birds farms, scientific research laboratories.

5.03.2004й.да.босишга рухсат этилди.  
№34 буюртма. 1,0 босма тобоқ ҳажми  
60x84 1/16. 100 нусха.

---

СамҚХИ босмахонасида чоп этилди.  
Самарқанд ш., М.Улуғбек кўч., 77