

УДК 578.832.1

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ШТАММА ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА, ВЫДЕЛЕННОГО В 2013 ГОДУ В ПТИЦЕВОДЧЕСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ НА ЮГО-ВОСТОКЕ КАЗАХСТАНА

К.О. Карамендин, А.И. Кыдырманов, С.Е. Асанова, А. Сейдалина, Е.Я. Хан, К.Д. Даулбаева, Е.Т. Касымбеков, С.А. Сулейменова, К.Х. Жуматов, М.Х. Саятов

Институт микробиологии и вирусологии, ул. Богенбай батыра, 103, Алматы, 050010, Казахстан

kobey@nursat.kz

Весной 2013 г. в птицеводческом хозяйстве на Юго-Востоке Казахстана среди домашних цыплят 30-дневного возраста возникла вспышка острого инфекционного заболевания. При скрининге собранных материалов в ПЦР получены положительные результаты с обнаружением специфических продуктов в 132 пары оснований, что свидетельствует о наличии РНК ВБН в исследованных образцах.

После выделения вируса на куриных эмбрионах, последующей его очистки, концентрации и экстрагирования РНК, проведено секвенирование фрагмента гена, кодирующего белок слияния (F-протени). В результате секвенирования расшифрована последовательность нуклеотидов в 999 п.о., которая включает сайт расщепления белка слияния, что важно для выявления его патогенности.

Для определения филогенетических взаимоотношений секвенированного вируса осуществлен анализ имеющихся в международной базе данных полных нуклеотидных последовательностей F-гена ПМВ-1.

В статье приведены результаты филогенетического анализа штамма вируса болезни Ньюкасла, выделенного от больных кур по данным секвенирования фрагмента F-гена. Показано, что изолят относится к VII генетическому кластеру, состоящему из высокопатогенных для домашних птиц вирусов, широко распространенных в странах Азиатского субконтинента. Высказывается предположение об экзогенном происхождении вируса, так как поголовье птиц в этом хозяйстве было иммунизировано вакциной из лентогенного (авирулентного) штамма Ла Сота.

Известно, что использование вакцины, содержащей любой генотип ВБН, защищает поголовье птиц от гибели и проявления клинических признаков болезни, но выделение вируса во внешнюю среду при этом не прекращается, что может способствовать распространению инфекции особенно в тех случаях, когда внесенный вирус имеет расхождение в генетической структуре с вакцинным штаммом. В связи с этим при иммунизации птицепоголовья следует использовать вакцины, приготовленные на основе близких в филогенетическом отношении штаммов ВБН, циркулирующих в данном регионе.

Ключевые слова: парамиксовирус, болезнь Ньюкасла, ПЦР, праймер, филогенез, генотип, кластер.

PHYLOGENETIC CHARACTERIZATION OF HIGHLY PATHOGENIC NEWCASTLE DISEASE VIRUS ISOLATED IN 2013 IN A PULTRY FARM OF SOUTHEASTERN KAZAKHSTAN

K.O. Karamendin, A.I. Kydyrmanov, S.E. Asanova, A. Seidalina, E.Ja. Khan, K.D. Daulbaeva, E.T. Kasymbekov, S.A. Suleimenova, K.H. Zhumatov, M.H. Sayatov

Institute of Microbiology and Virology, 103 Bogenbaybatyr str., 050010, Almaty, Kazakhstan

kobey@nursat.kz

In 2013 in a poultry farm in South-Eastern Kazakhstan, an outbreak of acute infectious disease has occurred among 30-days-old domestic chickens. Positive results were obtained at screening of the collected materials in PCR and of specific bands of 132 bp were detected, indicating the presence of Newcastle disease virus RNA in samples.

After isolation of the virus in embryonated chicken embryos, its subsequent purification, concentration and RNA extraction, sequencing of the gene encoding the fusion protein (F- protein) was performed. In the result of sequencing, the nucleotide sequence of 999 bp was decoded, which includes the cleavage site of the fusion protein that is important to identify its pathogenicity.

The results of phylogenetic analysis of Newcastle disease virus strain isolated from sick chickens are shown on the basis of sequencing of the F- gene. It is shown that on the fusion protein gene, all the studied viruses classified in two phylogenetically distinct classes - 1 and 2. Kazakhstan APMV-1/chicken/Almaty/41/2013 strain was in a group of viruses belonging to genotype VII in Class 2. This group is formed by the APMV -1 viruses, containing polybasic amino acids KRQKR in the sequence of the fusion protein, that indicates their high pathogenicity to birds. Territory of circulation of this highly pathogenic genotype virus covers vast territory on the Asian subcontinent spaces, affecting a significant number of avian fauna. Supposition of an exogenous origin of the virus was proposed, as poultry in this farm was immunized with a vaccine containing lentogenic (avirulent) Newcastle disease virus strain La Sota.

It is known that the use of a vaccine containing any genotype of Newcastle disease virus protects poultry against mortality and clinical signs of disease, but the virus release into environment was not stopped, that may contribute to the continuous spread of infection especially in cases where the introduced virus has divergence in the genetic structure with vaccine strain.

Keywords: paramyxovirus, Newcastle disease, PCR, primer, phylogeny, genotype, cluster.

ВВЕДЕНИЕ

Болезнь Ньюкасла и грипп птиц являются наиболее контагиозными и опасными вирусными инфекциями домашних и диких птиц. Их возбудители вызывают опустошительные вспышки во всех регионах мира и наносят значительный урон птицеводству [1, 2].

Вирус болезни Ньюкасла (ВБН) относится к роду *Avulavirus* семейства *Paramyxoviridae* и характеризуется минус-нитевым РНК-геномом. Его вирионная РНК представлена шестью генами, кодирующими гемагглютинин-нейраминидазу (HN), нуклеопротеин (NP), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), РНК-зависимую РНК-полимеразу (L) и белок слияния (F), дополнительно имеются два неструктурных белка V и W [3].

Впервые болезнь описана F. Kranveld в 1926 г. на о. Ява [4], а сам вирус выделен T. Doyle в 1927 г. [5]. В бывшем СССР от водоплавающих птиц ВБН впервые изолирован в 1974 г. [6]. На территории Казахстана вирус обнаружен у синантропных (домовой и полевой воробей, серая ворона, сорока) и домашних птиц, а также у диких голубей во время их массовой гибели [7, 8, 9, 10].

Первые работы по изучению вируса болезни Ньюкасла в Казахстане проведены в рамках целевой Государственной программы с 1987 по 1990 гг. В межэпизоотический период в шести птицефабриках южного и юго-восточного Казахстана собраны от 2365 домашних кур и 410 индеек биологические пробы в виде клоакальных и назальных смывов и кусочков органов от павших птиц и выделено 14 штаммов ПМВ-1. По результатам внутривенного заражения однодневных цыплят и определения среднего времени гибели куриных эмбрионов (СВГ КЭ) выделенные вирусы отнесены к велегенным (высокопатогенный), мезогенным (умеренно-патогенный) и лентогенным (низкопатогенный) патотипам.

С конца 1990-х до середины 2000-х годов во время эпизоотий, охвативших территорию Казахстана, выделено 63 штамма парамиксовирусов серотипа 1. Штаммы принадлежали к велегенному, мезогенному и лентогенному патотипам, и по биологическим свойствам и антигенным взаимосвязям в РТГА характеризовались выраженной гетерогенностью.

Полученные в ходе многолетних исследований данные свидетельствуют о неблагоприятной обстановке в Казахстане по болезни Ньюкасла среди домашних птиц как промышленного, так и приусадебного содержания. Циркуляция в популяциях синантропных птиц эпизоотически актуальных, мезогенных штаммов ВБН, антигенно

отличающихся от ранее циркулировавших вариантов, определяет необходимость проведения регулярного мониторинга этого возбудителя в Казахстане [11].

Несмотря на достаточно хорошую изученность этого вируса, повсеместно происходят массовые заболевания с высокой смертностью во многих развивающихся странах.

Цель настоящей работы заключалась в филогенетической характеристике изолята ВБН, вызвавшего заболевание среди домашних птиц в одном из птицеводческих хозяйств Юго-Восточного Казахстана.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для выделения вируса использовали клоакальные смывы и кусочки органов от домашних птиц. До начала исследований пробы хранили в низкотемпературном морозильнике (-70°C).

Изоляцию вирусов проводили путем инокуляции каждой пробы в аллантоисную полость трех 10-11-дневных куриных эмбрионов и последующей их инкубации при температуре +36°C в течение 48 ч. по сертифицированным методикам, рекомендованным Международным Эпизоотическим Бюро [12].

Очистку и концентрацию вирусов осуществляли дифференциальным центрифугированием при 5000 об/мин в течение 10 мин и 29 000 об/мин в течение 180 мин при +4°C.

Вирусную РНК выделяли с использованием набора QIAampViral RNA Minikit (QiagenGmbH, Hilden) в соответствии с рекомендациями производителя.

Обратную транскрипцию - полимеразную цепную реакцию (ОТ-ПЦР) выполняли на амплификаторе Eppendorf Gradient с праймерами к участку F-гена ВБН.

Для одношаговой ОТ-ПЦР использовали набор AccessQuickRT-PCRKit (Promega, США) с праймерами к участку F-гена в концентрации 0,5 микромоль, положительным контролем служила РНК изолята ПМВ-1/цыпленок/Талдыкорган/1578/06. Реакцию проводили при следующих условиях: обратная транскрипция при 48°C 45 мин, начальная 2 мин денатурация при 95°C, амплификация в 30 циклов, включающая денатурацию (94°C, 30 сек), отжиг праймеров (55°C, 30 сек), удлинение цепи (72°C, 40 сек) с последующей окончательной элонгацией при 72°C, 10 мин.

Выравнивание и филогенетический анализ секвенированных генов ПМВ с полными нуклеотидными последовательностями таковых из Генбанка проводили с помощью компьютерной программы MEGA 5.2 методом присоединения соседей на основании 1000 выборок, модель Tamura-Nei.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Весной 2013 г. в птицеводческом хозяйстве на Юго-Востоке Казахстана среди домашних цыплят 30-дневного возраста возникла вспышка острого инфекционного заболевания. При скрининге собранных материалов в ПЦР получены положительные результаты с обнаружением специфических продуктов в 132 пары оснований, что свидетельствует о наличии РНК ВБН в исследованных образцах [13].

После выделения вируса на куриных эмбрионах, последующей его очистки, концентрации и экстрагирования РНК, проведено секвенирование фрагмента гена, кодирующего белок слияния (F-протеин). В результате секвенирования расшифрована последовательность нуклеотидов в 999 п.о., которая включает сайт расщепления белка слияния, что важно для выявления его патогенности.

Для определения филогенетических взаимоотношений секвенированного вируса осуществлен анализ имеющихся в международной базе данных полных нуклеотидных последовательностей F-гена ПМВ-1. Список включенных для сравнительных исследований штаммов ВБН представлен в таблице 1.

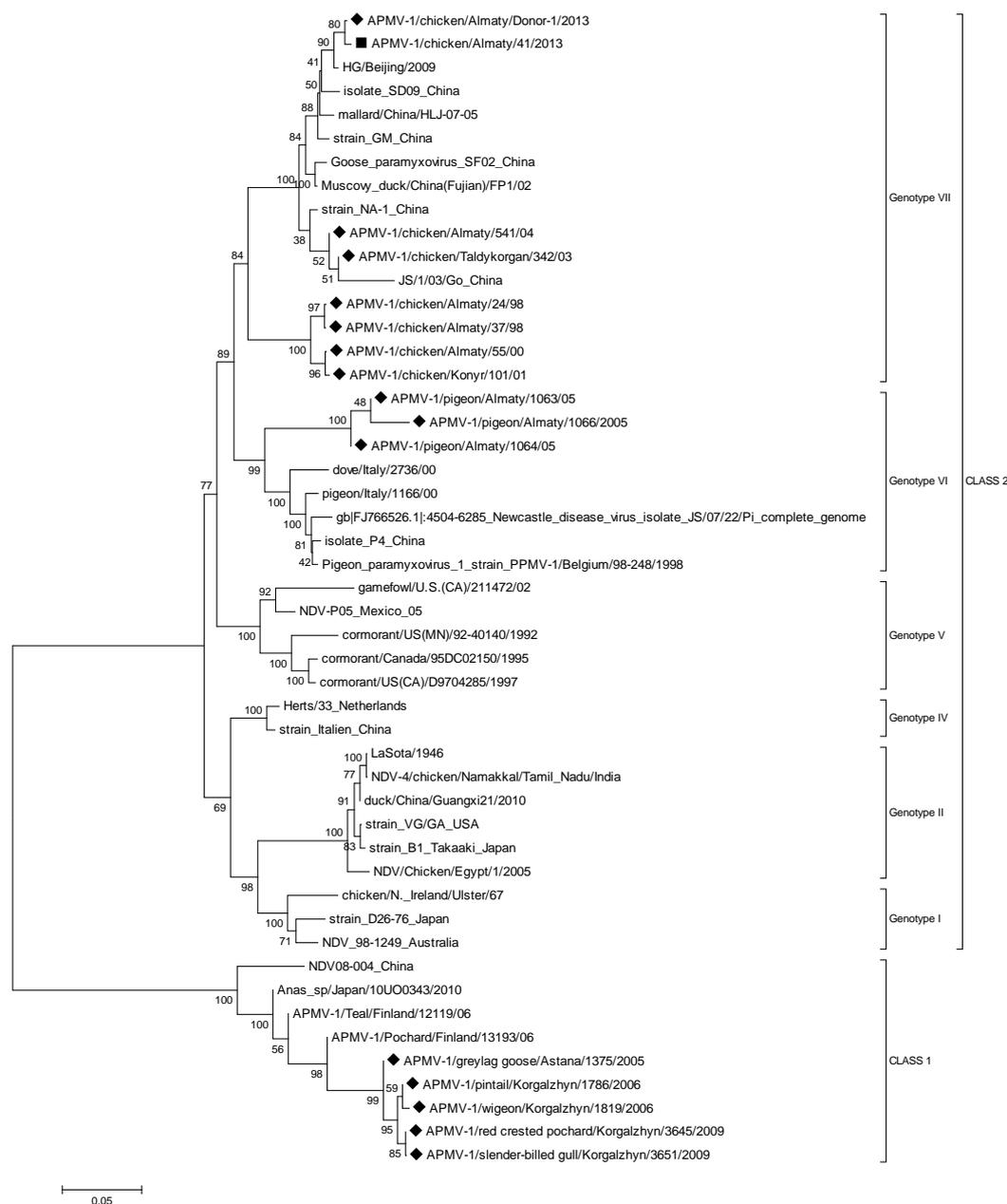
Таблица – Штаммы ВБН из Генбанка, использованные в филогенетических исследованиях
 Table 1 – NDV strains from Genbank used in phylogenetic researches

Штамм вируса Virus strain	Год и место выделения Date and Place of Isolation	Генотип Genotype	Код в Генбанке Genbank Accession Number
GM	2007 China	VII	DQ486859
Muscovy duck/China(Fujian)/FP1/02	2009 China	VII	FJ872531
NA-1	2006 China	VII	DQ659677
Mallard/China/HLJ-07-05	2007 China	VII	EF592500
SD09	2009 China	VII	HQ317395
HG/Beijing/2009	2010 China	VII	FJ882015
Goose paramyxovirus SF02	2002 China	VII	AF473851
JS/1/03/Go	2003 China	VII	DQ682437
APMV- 1/chicken/Almaty/41/2013	2013 Kazakhstan	VII	-
APMV- 1/chicken/Almaty/Donor- 1/2013	2013 Kazakhstan	VII	-
Dove/Italy/2736/00	2000 Italy	VI	AY562989
P4	2010 China	VI	HM063425
Pigeon/Italy/1166/00	2000 USA	VI	AY288996
JS/07/22/Pi_pigeon_China	2007 China	VI	FJ766526
PPMV-1/Belgium/98-248/1998	1998 Belgium	VI	JX901110
APMV- 1/pigeon/Almaty/1066/2005	2005 Kazakhstan	VI	-
gamefowl/U.S.(CA)/211472/02	2002 USA	V	AY562987
NDV-P05_Mexico_05	2005 Mexico	V	HM117720
cormorant/US(MN)/92- 40140/1992	1992 USA	V	GQ288387
cormorant/Canada/95DC02150 /1995	1995 Canada	V	GQ288383
cormorant/US(CA)/D9704285/ 1997	1997 USA	V	GQ288381
Herts/33	1933 Netherlands	IV	AY741404
Italien	1945 Italy	IV	EU293914
D26/76	1976 Austria	I	M24692
NDV_98-1249_Australia	1998 Australia	I	AY935492
Ulster 2C	1967 UK	I	Z30084
Lasota	1946 Netherlands	II	AF077761
NDV- 4/chicken/Namakkal/India strain_B1_Takaak	2009 India	II	HM357251
2000 Japan	2000 Japan	II	AF375823
duck/China/Guangxi21/2010	2010 China	II	JX193082
strain_VG/GA_USA	2000 USA	II	EU289028
NDV/Chicken/Egypt/1/2005	2005 Egypt	II	FJ939313

NDV08-004_China	2008	China	CLASS 1	FJ794269
Anas_sp/Japan/10UO0343/2010	2010	Japan	CLASS 1	KC503412
APMV-1/Teal/Finland/12119/06	2006	Finland	CLASS 1	EU493452
APMV-1/Pochard/Finland/13193/06	2006	Finland	CLASS 1	EU493454

Как видно из таблицы 1, в работе использованы полные нуклеотидные последовательности F-гена 41 штамма ПМВ-1, представляющих регионы, где выделены ВБН всех генотипов и классов.

Результаты филогенетических взаимоотношений казахстанского штамма АРМВ-1/chicken/Almaty/41/2013 с таковыми из Генбанка отражены на рисунке 1.



Примечание – Казахстанские изоляты ранних лет выделения обозначены с помощью ромбиков, квадратом обозначен исследуемый изолят АРМВ-1/chicken/Almaty/41/2013

Рисунок 1 – Филогенетические взаимоотношения по F-гену изолята APMV-1/chicken/Almaty/41/2013 с вирусами из международной базы данных Генбанка

Note – Kazakhstan isolates of previous years are marked with rhombus and virus under study APMV-1/chicken/Almaty/41/2013 is marked with square

Figure 1 - Phylogenetic relationships of the APMV-1/chicken/Almaty/41/2013 isolate with other NDVs from Genbank by F-gene

Как видно из дендрограммы, по гену белка слияния, все исследуемые вирусы разделяются на два филогенетически различающихся класса - 1 и 2. Казахстанский штамм APMV-1/chicken/Almaty/41/2013 оказался в группе вирусов, относящихся к VII генотипу класса 2. Его формируют ПМВ-1, содержащие в последовательности белка слияния основные аминокислоты KRQKR, являющиеся показателем их высокой патогенности для птиц. Циркуляция вирусов данного высокопатогенного генотипа охватывает огромные территории на пространствах Азиатского субконтинента, поражая значительное количество птицепоголовья [14].

Принадлежность выделенного возбудителя инфекции к велогенному VII генотипу ВБН указывает на его возможное экзогенное происхождение, так как поголовье птиц в хозяйстве на юго-востоке Казахстана было иммунизировано вакциной из лентогенного (авирулентного) штамма Ла Сота.

Известно, что использование вакцины, содержащей любой генотип ВБН, защищает поголовье птиц от гибели и проявления клинических признаков болезни, но выделение вируса во внешнюю среду при этом не прекращается [15], что может способствовать распространению инфекции особенно в тех случаях, когда внесенный вирус имеет расхождение в генетической структуре с вакцинным штаммом. В связи с этим, при иммунизации птицепоголовья следует использовать вакцины, приготовленные на основе близких в филогенетическом отношении штаммов ВБН, циркулирующих в данном регионе.

Полученные сведения важны для практической ветеринарии при расшифровке вспышек заболеваемости и контроле над возникающими чрезвычайными эпидемическими ситуациями в Казахстане, и актуальность проведения комплексного эколого-вирусологического мониторинга возбудителя болезни Ньюкасла в популяциях диких и домашних птиц остаётся важной задачей.

ВЫВОДЫ

1. Выделенный изолят филогенетически относится к VII генетическому кластеру, состоящему из высокопатогенных для домашних птиц вирусов, широко распространенных в странах Азиатского субконтинента.

2. Определено его экзогенное происхождение, так как поголовье птиц в этом хозяйстве было иммунизировано авирулентной вакциной из штамма Ла Сота.

3. Рекомендовано использовать вакцины, приготовленные на основе близких в филогенетическом отношении штаммов ВБН.

Благодарность

Авторы выражают признательность сотрудникам Национального центра биотехнологии Шевцову А. и Жолдыбаевой Е. за помощь, оказанную в выполнении работ по секвенированию вирусов. Также благодарим рецензента А.П. Богоявленского за ценные замечания, которые способствовали улучшению качества статьи.

Работа выполнена в рамках грантовых проектов «Изучение эволюционной изменчивости орто- и парамиксовирусов диких птиц» и «Изучение экологии и генетического разнообразия парамиксовирусов диких и домашних птиц Казахстана», по бюджетной программе «Грантовое финансирование», по приоритету Интеллектуальный потенциал страны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alexander D.J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses *Rev Sci Tech.* - 2000. - №19(2). - P. 443-62.
2. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses // *Microbiol Rev.* – 1992. - №56. - P. 152-179.
3. Каверин Н.В., Львов Д.К. Парамиксовирусы (Paramyxoviridae) // В кн.: *Медицинская вирусология.* – 2008. - С. 183-189.
4. Kranveld F.E. About a poultry disease in the Netherlands Indies // *Ned. Indies, VI. Diergeneek.* – 1926. - №38. - P. 448-450.
5. Doyle T.M. A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter passing virus // *Journal of Comparative Pathology.* – 1927. - №40. - P. 162-171.
6. Львов Д.К., Сюрин Л.К., Никифоров А.П., Портянко Н.В., Сазонов А.А., Андреев В.П., Чумаков В.М., Белоусова Р.В., Константинова Л.А., Забигайло Н.М., Львов Н.Д., Михтарьянц Э.А., Мырзин Н.И., Жезмер В.Ю. Обнаружение природных очагов вируса болезни Ньюкасл в СССР // *Вопросы вирусологии.* - 1977. - №3. - С. 11–315.
7. Саятов М.Х., Бутакова И.Ш., Богомолова Т.С., Асанова С.Е., Шахворостова Л.И., Даулбаева К.Д., Ишмухаметова Н.Г., Кыдырманов А.И., Жуматов К.Х. Межвидовая трансмиссия вируса болезни Ньюкасла // *Поиск.* – 2005. - №2. – С. 56-63.
8. Саятов М.Х., Кыдырманов А.И., Бутакова И.Ш. Структурная организация и антигенная вариабельность вируса болезни Ньюкасла // *Вестник Казахского национального университета им. аль-Фараби. Серия биологическая.* – 2002. - №1(16). - С. 36-45.
9. Саятов М.Х., Бутакова И.Ш., Кыдырманов А.И., Даулбаева К.Д., Асанова С.Е. Итоги изучения парамиксовируса птиц серотипа 1 в Казахстане // *Изв. МОН РК, НАН РК. Сер. биол. и мед.* - 2003. - №2. - С. 71-81.
10. Bogoyavlenskiy A., Berezin V., Prilipov A., Usachev E., Lyapina O., Korotetskiy I., Zaitceva I., Asanova S., Kudyрманов A., Daulbaeva K., Shakhvorostova L., Sayatov M. and King D. Newcastle disease outbreaks in Kazakhstan and Kyrgyzstan during 1998, 2000, 2001, 2003, 2004 and 2005 were caused by viruses of the genotypes VIIb and VIIId. – 2009. - №39. - P. 94-101.
11. Даулбаева К.Д., Асанова С.Е., Бутакова И.Ш. и др. Характеристика парамиксовирусов серотипа 1, выделенных на территории Республики Казахстан // В кн.: *Совр. методы борьбы с болезнями животных в Казахстане.* – Алматы, 1993. - С. 53-58.
12. Office International des Epizooties (OIE). Newcastle disease // In: *Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, 3rd Ed.* OIE. - Paris, 1996. - P. 161-169.
13. Карамендин К.О., Асанова С.Е., Кыдырманов А.И., Нуршин К.А., Сейдалина А., Хожамжарова М., Хан Е.Я., Даулбаева К.Д., Касымбеков Е.Т., Жуматов К.Х., Саятов М.Х. Изоляция вируса болезни Ньюкасла велогенного патотипа от вакцинированных птиц в Юго-Восточном Казахстане // *Микробиология және вирусология журналы.* – 2013. - №3(2). - С. 117-124.
14. Aldous E.W., Mynn J.K., Banks J., Alexander D.J. A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene // *Avian Pathol.* – 2003. - №32. – P. 239–256.
15. Miller P.J., King D.J., Afonso C.L., Suarez D.L. Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge // *Vaccine.* – 2000. - №25(41). - P. 7238-7246.

REFERENCES

1. Alexander D.J. *Newcastle disease and other avian paramyxoviruses Rev Sci Tech*, 2000, no. 19(2), pp. 443-62. PMID:10935273.
2. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev.*, 1992, no. 56, pp.152-179. PMID: 1579108.

3. Kaverin N.V., L'vov D.K. Paramiksovirusy (Paramyxoviridae) [Paramyxoviruses]. *V kn.: Medicinskajavirusologija*, 2008, pp. 183-189.
4. Kranveld F.E. About a poultry disease in the Netherlands Indies. *Ned. Indies, BI. Diergeneek*, 1926, no. 38, pp. 448-450.
5. Doyle T.M. A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter passing virus. *Journal of Comparative Pathology*, 1927, no. 40, pp. 162-171.
6. L'vov D.K., Sjurin L.K., Nikiforov A.P., Portjanko N.V., Sazonov A.A., Andreev V.P., Chumakov V.M., Belousova R.V., Konstantinova L.A., Zabigajlo N.M., L'vov N.D., Mihtar'janc Je.A., Mymrin N.I., Zhezmer V.Ju. Obnaruzhenie prirodnyh ochagov virusa bolezni N'jukasl v SSSR [Detection of natural reservoirs of Newcastle disease virus in USSR]. *Voprosy virusologii*, 1977, no. 3, pp. 11-315.
7. Sajatov M.H., Butakova I.Sh., Bogomolova T.S., Asanova S.E., Shahvorostova L.I., Daulbaeva K.D., Ishmuhametova N.G., Kydyrmanov A.I., Zhumatov K.H. Mezhhvidovaja transmissija virusa bolezni N'jukasla [Interspecies transmission of Newcastle disease virus]. *Poisk*, 2005, no. 2, pp. 56-63.
8. Sajatov M.H., Kydyrmanov A.I., Butakova I.Sh. Strukturnaja organizacija i antigenajaja variabel'nost' virusa bolezni N'jukasla [Structural composition and antigenic variability of Newcastle disease virus]. *Vestnik Kazahskogo nacional'nogo universiteta im. al'-Farabi. Serija biologicheskaja*, 2002, no. 1(16), pp. 36-45.
9. Sajatov M.H., Butakova I.Sh., Kydyrmanov A.I., Daulbaeva K.D., Asanova S.E. Itogi izuchenija paramiksovirusa ptic serotipa 1 v Kazahstane [Results of investigation of avian paramyxoviruses of serotype -1 in Kazakhstan]. *Izv. MON RK, NAN RK. Ser.biol. i med.*, 2003, no. 2, pp. 71-81.
10. Bogoyavlenskij A., Berezin V., Prilipov A., Usachev E., Lyapina O., Korotetskiy I., Zaitceva I., Asanova S., Kydyrmanov A., Daulbaeva K., Shakhvorostova L., Sayatov M. and King D. *Newcastle disease outbreaks in Kazakhstan and Kyrgyzstan during 1998, 2000, 2001, 2003, 2004 and 2005 were caused by viruses of the genotypes VIIb and VIIId*. 2009, no. 39, pp. 94-101. DOI 10.1007/s11262-009-0370-1
11. Daulbaeva K.D., Asanova S.E., Butakova I.Sh. i dr. Harakteristika paramiksovirusov serotipa 1, vydelennyh na territorii Respubliki Kazahstan [Characterization of avian paramyxoviruses of serotype -1 isolated in Kazakhstan]. *V kn.: Sovr. metodybor'by s boleznya mizhivotnyh v Kazahstane*. Almaty, 1993, pp. 53-58.
12. Office International des Epizooties (OIE). Newcastle disease. *In: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines*, 3rd Ed. OIE, Paris, 1996, pp. 161-169.
13. Karamendin K.O., Asanova S.E., Kydyrmanov A.I., Nurshin K.A., Sejdalina A., Hozhamzharova M., Han E.Ja., Daulbaeva K.D., Kasymbekov E.T., Zhumatov K.H., Sajatov M.H. Izoljacija virusa bolezni Njukas lavelogennoho patotipa ot vakcinirovannyh ptic v Jugovostochnom Kazahstane [Isolation of Newcastle disease virus of mesogenicpathotype from vaccinated poultry in southeastern Kazakhstan]. *Mikrobiologija zhane virusologija zhurnal*, 2013, no. 3(2), pp. 117-124.
14. Aldous E.W., Mynn J.K., Banks J., Alexander D.J. A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene. *Avian Pathol*, 2003, no. 32, pp. 239-256. PMID:12850913.
15. Miller P.J., King D.J., Afonso C.L., Suarez D.L. Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge. *Vaccine*, 2000, no. 25(41), pp. 7238-7246. PMID: 17719150.

ТҮЙІН

Қазақстанның оңтүстік-шығысындағы құс шаруашылығында 2013 жылдың көктемінде 30 күндік үй балапандарында күшті жұқпалы ауру жайылуы пайда болды. Жиналған материалдардың ПТР-дағы скрининг кезінде 132 жұп негіздемелердің ерекше өнімдері анықталған оң нәтижелер алынды, ол зерттелген

сынамаларда Ньюкасл ауруы вирусының РНҚ-сы бар болуын көрсетеді. Тауық тұқымдарынан вирус бөлінгеннен соң, оны тазарту, байыту және РНҚсын алу жұмыстарының кейін, қосылу ақуызы гені (F-протеин) секвенирленді. Нәтижесінде 999 жұп негізді нуклеотид тізбегінің реті анықталды, оның ішінде қосылу ақуызының екіге бөліну сайты кіреді. Бұл вирустың патогендігін анықтауына қажет.

Секвенирленген вирустың филогенетикалық өзара қатынастарын анықтау үшін халықаралық жинақта бар F-геннің нуклеотид тізбектерімен салыстыру арқылы сараптау жұмыстары өткізілді. Мақалада Оңтүстік-Шығыс Қазақстанның құс шаруашылығында бөлінген Ньюкасл ауруы вирусының филогенетикалық өзара қатынастарын анықтау мен F-генін секвенирлеу нәтижелері келтірілген. Бөлінген вирус VII генетикалық кластеріне жататындығы көрсетілді, ол зардаптылығы жоғары Азия субконтинентінде кең тараған вирустарынан тұрады. Вирустың сырттан кіргендігі туралы болжам айтылуда, өйткені бұл шаруашылықтағы құстар Ла Сота авирулентті штамының вакцинасымен егілген болатын.

Ньюкасл ауруы вирусына қарсы құрамында кез келген генотипі бар вакцинасын қолданғанда, ол құстарды өлімнен сақтайды және аурудың клиникалық көрсеткіштерін болғыздырмайды. Бірақ вирус қоршаған ортаға таратыла береді. Сондықтан, филогенетикалық жағынан жақын вирустарды қолданған жөн.

Кілтті сөздер: парамиксовирус, Ньюкасл ауруы, ПТР, праймер, филогенез, генотип, кластер.