

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

На правах рукописи

Вершинина Мария Андреевна

**ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВАКЦИН ПРОТИВ
НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ НА ОСНОВЕ АНТИГЕНА ВИРУСА
СУБГЕНОТИПА VII.1.1**

4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Владимир 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

- Научный руководитель:** **Мороз Наталья Владимировна,**
кандидат ветеринарных наук
- Официальные оппоненты:** **Пименов Николай Васильевич,**
доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой иммунологии и
биотехнологии ФГБОУ ВО «Московская
государственная академия ветеринарной
медицины и биотехнологии – МВА имени
К.И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ –
МВА имени К.И. Скрябина), г. Москва;
- Веретенников Владислав Валерьевич,**
кандидат ветеринарных наук, директор
Всероссийского научно-исследовательского
ветеринарного института птицеводства -
филиала ФНЦ «ВНИТИП», г. С.-Петербург,
Ломоносов.
- Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки «**Сибирский
федеральный научный центр
агробиотехнологий**» (СФНЦА РАН), р. п.
Краснообск Новосибирской области.

Защита состоится «__» _____ 2026 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 36.1.002.01 при ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, мкр. Юрьевец, ул. Гвардейская 6.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «ВНИИЗЖ». Полный текст диссертации, автореферата и отзыв научного руководителя размещены на официальном сайте ФГБУ «ВНИИЗЖ» www.arriah.ru

Автореферат разослан _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Жбанова Татьяна Валентиновна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время птицеводство считается одной из наиболее прибыльных и значимых отраслей российской экономики. Тем не менее, существуют проблемы, которые способны поставить под угрозу прибыльность птицеводческих предприятий во многих странах, в том числе в Российской Федерации. Актуальной проблемой является ньюкаслская болезнь птиц (НБ), очаги которой ежегодно регистрируются по всему миру. По данным Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ), в 2024 году было зарегистрировано свыше 1,5 тыс вспышек ньюкаслской болезни в 32 странах Америки, Азии, Африки и Европы, а наибольшее число случаев пришлось на Нигерию (363) и Пакистан (278). В 2025 году в 30 странах мира зафиксирован по меньшей мере 891 очаг болезни, большинство из которых – на территории Индонезии (241). По состоянию на февраль 2026 года, напряженная эпизоотическая ситуация сохраняется в Польше, где с начала года подтверждено 16 случаев НБ.

Хотя все вирусы ньюкаслской болезни относятся к одному серотипу, между генотипами наблюдается антигенное и генетическое разнообразие (Miller P.J., 2013). Все больший интерес в последние годы вызывает VII генотип, возникший еще в 1990-х годах, но превалирующий в настоящее время в Азии и на Ближнем Востоке, а также в Европе, Южной Африке и Южной Америке (Shahsavandi S., 2021). Несмотря на то, что во многих странах осуществляются интенсивные программы вакцинации, вспышки НБ, вызванные вирусом VII генотипа, иногда регистрируются даже в вакцинированных хозяйствах (Diel D.G., 2012; Roohani K., 2015). Повторные вспышки болезни среди иммунизированного поголовья могут указывать на недостаточную эффективность существующих вакцин ввиду антигенных различий между вакцинным и полевым штаммами вируса, или схем вакцинации, применяемых для борьбы с болезнью (Shahsavandi S., 2021).

В последнее время многие авторы также рассматривают вопросы антигенного несоответствия как острую проблему, способную непосредственно повлиять на результат вакцинации. В связи с этим возникает необходимость актуализации производственных штаммов вируса ньюкаслской болезни и разработки инактивированных вакцин на основе антигенов вируса НБ не только генотипа II, но и генотипа VII, активно циркулирующего по всему миру.

Степень разработанности проблемы. Ньюкаслская болезнь птиц известна с 20-х годов прошлого столетия и по-прежнему остается актуальной темой научных публикаций. В источниках литературы изложена информация о строении возбудителя болезни и его распространении, о клинических и

патологоанатомических признаках болезни, а также об особенностях, связанных с ее диагностикой. Отдельное внимание нередко уделено вопросам вакцинопрофилактики. Наиболее известными зарубежными экспертами являются Doyle T.M., Alexander D.J., Aldous E.W., Miller P.J. и многие другие. Данные, представленные в их публикациях, легли в основу обзорных и практических статей, посвященных ньюкаслской болезни.

В 1963 году вышла фундаментальная работа российского академика В.Н. Сюрица «Псевдочума птиц», в которой детально рассмотрены основные аспекты ньюкаслской болезни. Позднее эпизоотическую ситуацию по НБ среди отечественных авторов изучали Караулов А.К., Ирза В.Н., Борисов В.В., Глущенко А.В. и другие.

В настоящее время существуют различные препараты для специфической профилактики ньюкаслской болезни. Разработкой отечественных вакцин занимались, в частности, Смоленский В.И., Ельников В.В., Колосков А.В., Григоренко А.И. и другие. Исследования кандидата биологических наук Глущенко А.В. предоставили множество данных о различных изолятах вируса ньюкаслской болезни, включая вирусы, относящиеся к генотипу VII. Тем не менее, вакцины отечественного производства преимущественно созданы на основе штаммов вируса, депонированных во второй половине XX века, которые относятся к более ранним генотипам по сравнению с ныне циркулирующими. В зарубежных странах уже созданы вакцины из штаммов вируса ньюкаслской болезни VII генотипа, а их эффективность в защите поголовья и снижении вирусовыделения подтверждена рядом исследований (Roohani K., 2015; Sultan H.A., 2020; Cho Sun-A, 2008). В связи этим целесообразным является разработка и внедрение в производство отечественных вакцин против ньюкаслской болезни на основе актуальных штаммов генотипа VII, а также изучение их иммунобиологических свойств.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлась оценка иммунобиологических свойств инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни, содержащих в качестве активного компонента штамм вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1. Определить основные биологические характеристики производственного штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1;

2. Установить оптимальные условия культивирования штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни для получения антигена в промышленных масштабах;
3. Определить оптимальный режим инаktivации штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни;
4. Подобрать адъювант для инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни, активным компонентом которых является штамм вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1;
5. Изучить биологические свойства вирулентного вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 с целью депонирования его в качестве референтного штамма для контрольного заражения;
6. Определить антигенные свойства инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни, основанных на антигене вируса НБ субгенотипа VII.1.1;
7. Оценить протективный эффект вакцинных препаратов на основе антигенов вируса ньюкаслской болезни генотипов VII и II при контрольном заражении вирулентным вирусом НБ субгенотипа VII.1.1.

Научная новизна результатов исследования. Изучены биологические свойства штамма «ВНИИЗЖ G7» (изолят NDV/by/chicken/612/2021) вируса ньюкаслской болезни генотипа VII и оформлен патент Российской Федерации на изобретение.

Исследован изолят NDV/chicken/rus/Saratov/2403-3/22 вируса ньюкаслской болезни генотипа VII и депонирован как референтный штамм «NDV-Saratov» для изготовления диагностических препаратов, а также для оценки эффективности биологических препаратов специфической профилактики ньюкаслской болезни методом контрольного заражения.

Установлены особенности инфекционного процесса у кур при различных способах заражения вирусом ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1.

Изучены иммунобиологические свойства инаktivированных вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти», получены экспериментальные данные по оценке их протективного действия в сравнении с вакциной, созданной на основе штамма «Ла-Сота» вируса НБ генотипа II.

Теоретическая и практическая значимость работы. Создание инаktivированных вакцин на основе вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 позволяет обеспечить защиту стад домашней птицы от актуальных велогенных вирусов, которые циркулируют на территории страны, а проведение

доказательного анализа эффективности используемых препаратов имеет важное значение в улучшении мер профилактики ньюкаслской болезни.

Штамм «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни запатентован в качестве производственного. Штамм является активным компонентом вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти».

Штамм «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни депонирован во Всероссийскую государственную коллекцию экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ» под регистрационным номером: № 789-деп/25-6 – ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ». Штамм предложен к использованию в качестве референтного для оценки протективного действия вакцин против ньюкаслской болезни методом контрольного заражения.

Методология и методы исследования. В ходе выполнения исследований были использованы вирусологические (вирусовыделение, культивирование и титрование вируса), молекулярно-генетические (полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование, филогенетический анализ), а также серологические (реакция гемагглютинации (РГА), реакция торможения гемагглютинации (РТГА)), иммунологические (оценка антигенных и иммуногенных свойств вакцин на лабораторных животных) и статистические методы исследований. Исследования по теме диссертационной работы выполнены на базе лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» в период с 2023 по 2025 гг.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Технологические параметры культивирования производственного штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ позволяют получать специфический и активный вирусосодержащий материал в производственных масштабах;
2. Выбор адьюванта влияет на сроки формирования напряженного гуморального иммунитета к вирусу ньюкаслской болезни генотипа VII;
3. Штамм «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни может быть использован в качестве референтного для оценки эффективности биопрепаратов специфической профилактики ньюкаслской болезни методом контрольного заражения;
4. Инактивированные вакцины на основе вируса ньюкаслской болезни генотипа VII вызывают формирование более напряженного иммунитета к антигену вируса НБ генотипа VII в сравнении с вакциной из штамма «Ла-Сота»;
5. Инактивированные вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНьюМульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота»

вируса ньюкаслской болезни отвечают требованиям ВОЗЖ по показателю протективного действия;

6. Инактивированные вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНьюМульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» являются безвредными и высокоэффективными препаратами для профилактики ньюкаслской болезни, вызванной вирусами VII генотипа субгенотипа VII.1.1.

Личный вклад соискателя. Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании задач и экспериментов. Основной объем представленных в диссертации экспериментальных исследований и анализ полученных результатов выполнен автором самостоятельно. Консультативную и методическую помощь при выполнении отдельных этапов работы оказывали сотрудники ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Степень достоверности и апробация результатов работы. Степень достоверности проведенных исследований подтверждена комиссионными испытаниями. Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на международной научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых «Молодые ученые – науке и практике АПК» 25-26 апреля 2024 г., г. Витебск, республика Беларусь; международной научной конференции молодых ученых и специалистов, посвященной 150-летию со дня рождения Миловича Александра Яковлевича (3-5 июня 2024 г., г. Москва, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева); международной научно-практической конференции «Генетические и биотехнологические аспекты устойчивости животных к биопатогенам» (7-8 ноября 2025 г., г. Москва, ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина), а также на второй «Саньянской выставке российских научных достижений в области биологии» (19-22 января 2026 г., г. Санья, Китай).

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано шесть научных работ, три из них – в рецензируемых научных изданиях, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 4.2.3 «Инфекционные болезни и иммунология животных», и патент Российской Федерации на изобретение.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 119 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: обзор литературы, собственные исследования, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, список сокращений, список литературы, который состоит из 211 источников, из них 164 зарубежных, и приложения. Работа иллюстрирована

22 таблицами, 10 рисунками. В приложениях отражены копии титульных листов документов, которые подтверждают достоверность полученных данных.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность к.в.н. Н.В. Мороз, к.в.н. Д.Л. Долгову, к.в.н. С.В. Фролову, к.б.н. А.А. Пяткиной, к.в.н. В.Ю. Кулакову, д.в.н. М.С. Волкову, а также сотрудникам лаборатории профилактики болезней птиц, испытательной лаборатории ветеринарных препаратов и виварного комплекса – за консультативную и практическую помощь, оказанную при выполнении настоящей работы.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы

Вирусы ньюкаслской болезни: производственный штамм «Ла-Сота» генотипа II с исходной активностью $10,5 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$; производственный штамм «ВНИИЗЖ G7» генотипа VII с исходной активностью $9,0 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$; высоковирулентный штамм «NDV-Saratov» генотипа VII с исходной активностью $9,1 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$, используемый в качестве вируса для контрольного заражения.

Куриные эмбрионы. Для постановки исследований по определению биологических свойств вируса использовали развивающиеся СПФ-эмбрионы кур 9-11-суточной инкубации (VENKY'S LIMITED, Индия, или VALO BioMedia GmbH, Германия). При культивировании вируса НБ использовали развивающиеся СПФ-эмбрионы кур 9-11-суточной инкубации для получения рабочих посевных материалов и товарные эмбрионы кур 9-11-суточной инкубации – для получения вирусосодержащей суспензии для вакцины в промышленных масштабах.

Животные. Для исследований биологических свойств вируса использовали цыплят, выведенных из СПФ-яиц (VENKY'S LIMITED, Индия, или VALO BioMedia GmbH, Германия), в возрасте от 1 до 40 суток в зависимости от эксперимента. Для исследований иммунобиологических свойств вакцин использовали 28-30-суточных цыплят яичного кросса из хозяйства, благополучного по острым инфекционным болезням.

2.1. Методы исследований

Определение инфекционной активности вируса на куриных эмбрионах. Биологическую активность штамма определяли методом титрования в 9-11-суточных куриных эмбрионах (КЭ) категории СПФ в соответствии с «Методическими рекомендациями по выделению вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в развивающихся эмбрионах кур» (Сосипаторова В.Ю. и др., 2016). Из объединенной пробы готовили ряд десятикратных последовательных разведений (от 10^1 до 10^{10}). Каждое разведение вируса инокулировали в

аллантоисную полость четырем КЭ. Инокулированные КЭ инкубировали при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ и относительной влажности 60-70% в течение 96 ч. Ежедневно эмбрионы овоскопировали и регистрировали их состояние. Эмбрионы, погибшие после 24 ч инкубации и более, охлаждались в течение 12-24 ч при температуре $2-5^\circ\text{C}$ и использовались для сбора экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) и проведения дальнейших исследований. Специфичность гибели подтверждали постановкой РГА с экстраэмбриональной жидкостью каждого инокулированного эмбриона. Логарифмическую величину инфекционной активности вируса ($\lg \text{ЭИД}_{50}$) в заданном объеме вычисляли по формуле Кербера (Кулаков В.Ю. и др., 20216):

$$\lg \text{ЭИД}_{50} = X_{\max} + \lg h \times (\Sigma c + 0,5),$$

где: $X_{\max}$ – наибольшее разведение препарата, при котором зарегистрирован абсолютный эффект; Σc – сумма оценок положительных эффектов (значений $1 > c > 0$), установленных в границах рабочего диапазона; $\lg h = 1$; 0,5 – постоянный коэффициент.

Определение инфекционной активности вируса на опытных цыплятах.

Величину 50%-летальной дозы (LD_{50}) определяли на цыплятах, выведенных из СПФ яиц, возраст которых на момент инокуляции составлял 40 суток. Подготовленными разведениями заражали по 5 цыплят в бедренную мышцу в объеме 0,5 мл. В течение последующих 14 суток вели ежедневный учет больных и павших птиц. Учет результатов проводили по гибели объекта и по наличию выраженных клинических признаков болезни. Логарифмическую величину ($\lg \text{LD}_{50}$) в заданном объеме вычисляли по формуле Кербера.

Определение индекса интрацеребральной патогенности (ICPI).

Интрацеребральное заражение проводили в соответствии с протоколом ВОЗЖ (SOP: VI.438 Edition 10) по определению индекса интрацеребральной патогенности для птичьих ортоавуловирусов серотипа 1. Для получения вирусосодержащей аллантоисной жидкости объединенной пробой исследуемого вируса заражали 9-11-суточных СПФ-КЭ в аллантоисную полость в объеме $0,1 \text{ см}^3$. Инокулированные КЭ инкубировали при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ и относительной влажности 60-70% в течение 24-96 ч. Полученную аллантоисную жидкость с титром в РГА не ниже 2^4 ($1/32$) разводили стерильным физиологическим раствором в соотношении 1/10 без добавления антибиотиков. Указанным разведением вируса заражали десять цыплят, полученных из СПФ яиц, интрацеребрально в объеме $0,05 \text{ см}^3$. На момент инокуляции возраст птицы составлял 1 сут. Наблюдение проводили каждые 24 ч в течение 8 суток, присваивая каждой птице определенный балл: 0 – здоровая, 1 –

больная и 2 – павшая. Павшим особям присваивали 2 балла до конца проведения опыта (8 суток). Индекс интрацеребральной патогенности рассчитывали как средний балл патогенного воздействия вируса на птицу за одно наблюдение в течение 8-суточного периода. На основании баллов, присвоенных каждой птице в ходе эксперимента, производили расчет индекса интрацеребральной патогенности изучаемого вируса по формуле:

$$ICPI = W/80,$$

где 80 – константная величина, равная количеству наблюдений; W – общий клинический показатель в баллах.

Идентификация вируса в полимеразной цепной реакции (ПЦР). С целью идентификации вируса ньюкаслской болезни в исследуемых образцах проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в соответствии с «Методическими указаниями по выявлению РНК вируса ньюкаслской болезни методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» (Андриясов А.В. и др., 2024). Для исследования отбирали ротоглоточные и клоакальные смывы от живой птицы.

Генетическая идентификация вируса. С целью генетической идентификации вируса проводили определение первичной структуры участка генома образца с последующим филогенетическим анализом. Исследование проводили согласно «Методическим рекомендациям по определению первичной структуры генов F и HN изолятов вируса ньюкаслской болезни генотипа VII с помощью ОТ-ПЦР и нуклеотидного секвенирования» (Гусева Н.А. и др., 2022).

Реакция гемагглютинации (РГА). Пробы антигенсодержащих материалов исследовали в РГА в соответствии с «Методическими рекомендациями по идентификации вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации» (Сосипаторова В.Ю. и др., 2016). Определяли титр гемагглютинирующих единиц (ГАЕ).

Инаktivация вирусов. Вирусные материалы инаktivировали 1-(2-аминоэтил)-азиридином в течение 24-36 ч при температуре 37 °С. Титр антигена определяли в реакции гемагглютинации (РГА) и выражали в гемагглютинирующих единицах (ГАЕ). Полноту инаktivации определяли путем проведения трех пассажей на СПФ-КЭ, эмбрионы заражали в объеме 0,2 см³ в соответствии с рекомендациями ВОЗЖ.

Эмульгирование вакцин. Образцы эмульсионных вакцин готовили на основе вирусных антигенов: вируса НБ генотипа VII субгенотипа VII.1.1 штамма «ВНИИЗЖ G7» и вируса НБ генотипа II штамма «Ла-Сота», а также масляных адъювантов («Montanide ISA 78 VG», SEPPIC, Франция; «Coralvac RZ 528», Coral

Biyoteknoloji Sanayi ve Ticaret A.Ş., Турция). Антиген объединяли с масляным адъювантом в соотношении 30:70 и эмульгировали.

Иммунизация птиц. Каждый образец вакцины испытывали на отдельной группе птиц. Вакцину вводили внутримышечно в объеме 0,25-1,0 см³ в область груди. В контрольной группе птиц не иммунизировали.

Оценка напряженности поствакцинального гуморального иммунитета. Оценками напряженности поствакцинального гуморального иммунитета к вирусу НБ служили установленные в РТГА средние логарифмические титры антител к вирусу НБ (Т). Испытание на антигенную специфичность проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по идентификации вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации» (Сосипаторова В.Ю. и др., 2016). Для постановки РТГА с антигеном «Ла-Сота» использовали диагностические наборы производства ФГБУ «ВНИИЗЖ». Для постановки РТГА с антигеном «ВНИИЗЖ G7» использовали инаktivированный вирус штамма «ВНИИЗЖ G7». Согласно инструкции к применению инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», минимальным протективным титром антител к вирусу НБ считали величину не ниже 5,0 log₂ ГАЕ.

Определение протективной активности вакцин. Величину 50%-протективной дозы (PD₅₀) определяли методом регрессионного анализа согласно «Методическим рекомендациям по анализу параметров в системах «доза-эффект» с альтернативным способом оценивания» (Кулаков В.Ю. и др., 2016), «Статистической обработке результатов фармакологических исследований» (Прозоровский В.Б., 2007) и «Методам корреляционного и регрессионного анализа» (Ферстер Э., Ренц Б., 1983).

Контрольное заражение птиц. Вакцинированных и интактных птиц инфицировали вирулентным штаммом вируса НБ «NDV-Saratov». Вирусосодержащую суспензию вводили птицам внутримышечно в область бедра в объеме 0,5 см³ в инфицирующей дозе не менее 6 lg ЭИД₅₀ согласно рекомендациям ВОЗЖ. Для моделирования инфекционного процесса опытных птиц заражали интраназально, перорально или внутримышечно в инфицирующей дозе не менее 6 lg ЭИД₅₀. В ходе эксперимента по необходимости от живых птиц отбирали биоматериал, после гибели или убоя проводили патологоанатомические исследования.

Отбор проб. Отбор проб биоматериала осуществляли согласно «Методическим рекомендациям по отбору, хранению и

транспортировке проб биоматериала для проведения диагностических исследований на грипп птиц и болезнь Ньюкасла» (Андрейчук Д.Б. и др., 2019).

Патологоанатомическое вскрытие проводили в соответствии с ГОСТ Р 57547-2017 «Услуги для непродуктивных животных. Патологоанатомическое исследование трупов непродуктивных животных. Общие требования».

Описание и оценка процедур статистического анализа. Первичные результаты подвергали обработке. Обработка полученных данных производилась с использованием статистических методов в программе Microsoft Excel.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Начальным этапом работы стало изучение свойств и определение оптимальных условий культивирования вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 штамма «ВНИИЗЖ G7», депонированного в ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ» и предложенного в качестве производственного для изготовления инактивированных вакцин в 2022 году. Вирусный изолят NDV/by/chicken/612/2021, послуживший источником для получения штамма, был выделен в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2021 г. из проб патологического материала, полученного от павших в результате вспышки НБ цыплят-бройлеров птицефабрики Республики Беларусь.

Определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7». Для проведения испытания использовали эмбрионы категории СПФ. Каждое разведение вируса инокулировали в аллантоисную полость четырем куриным эмбрионам в объеме 0,1 см³. Определяли титр инфекционной и гемагглютинирующей активности (таблица 1).

Таблица 1 – Инфекционная и гемагглютинирующая активность вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» на куриных эмбрионах

№ опыта	Инфекционная активность, lg ЭИД ₅₀ /см ³	Гемагглютинирующая активность, log ₂ ГАЕ
1	9,75	9,00
2	9,00	8,00
3	9,25	8,00
Среднее значение	9,33 ± 0,25*	8,33 ± 0,31

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

Полученные значения позволили сделать вывод о возможности применения штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ в производственных целях.

Определение стабильности фенотипа штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни. Оценку стабильности фенотипа штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни птиц оценивали при проведении пяти последовательных пассажей исходного штамма в развивающихся куриных эмбрионах категории СПФ. Заражающая доза вируса составляла $4,0 \lg \text{ЭИД}_{50}/0,1 \text{см}^3$. После каждого пассажа отбирали объединенную пробу ЭЭЖ инокулированных эмбрионов и исследовали в РГА, а также определяли инфекционный титр вируса согласно методике (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» при пассировании на КЭ

№ пассажа	Гемагглютинирующая активность, $\log_2$ ГАЕ	Инфекционная активность, $\lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$
6	7,00	9,50
7	7,00	9,50
8	8,00	9,25
9	8,00	9,75
10	8,00	9,50
Среднее значение	$7,60 \pm 0,17^*$	$9,50 \pm 0,09$

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

В результате исследований установлено, что штамм «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни птиц при пассировании оставался стабильным. Средний титр гемагглютинирующей активности вируса имел величину $7,60 \pm 0,17 \log_2 \text{ ГАЕ}$, а инфекционной – $9,50 \pm 0,09 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$.

Подбор оптимальной заражающей дозы вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7». Исследование по подбору оптимальной заражающей дозы штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ проводили на СПФ куриных эмбрионах возрастом 9-11 суток. Определяли диапазон гибели и среднее время гибели эмбрионов (СВГ) для каждой из указанных доз. Среднее время гибели рассчитывали путем деления суммы часов гибели всех эмбрионов, вызванной заражающей дозой, на число эмбрионов (таблица 3).

На основании представленных в таблице 3 данных заключили, что наиболее высокий титр гемагглютинирующей активности, равный $8,2 \pm 0,09 \log_2 \text{ ГАЕ}$, наблюдался при заражении дозой $5,0 \lg \text{ЭИД}_{50}/0,1 \text{см}^3$. Суммарный титр инфекционной активности вируса также достигал максимального значения ($9,25 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$) в данной точке. Следовательно, заражающая доза $5,0 \lg \text{ЭИД}_{50}/0,1 \text{см}^3$

являлась наиболее подходящей для получения вирусосодержащей суспензии в промышленных условиях.

Таблица 3 – Влияние заражающей дозы на накопление штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни в куриных эмбрионах

Заражающая доза, lg ЭИД ₅₀ /0,1см ³	Диапазон времени гибели эмбрионов, ч	Среднее время гибели эмбрионов, ч	Средний титр гемагглютинирующей активности, log ₂ ГАЕ	Суммарный титр инфекционной активности, lg ЭИД ₅₀ /см ³
6,0	36-42	36,6	6,0 ± 0,09*	8,75
5,0	36-48	42,6	8,2 ± 0,09	9,25
4,0	36-54	44,4	7,6 ± 0,09	9,00
3,0	42-60	51	7,3 ± 0,07	9,00

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

Подбор оптимального времени культивирования штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни. Использовали товарные КЭ возрастом 9-11 суток. Для проведения исследования сформировали 6 опытных групп по 60 эмбрионов в каждой. Эмбрионы заражали суспензией вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7» в дозе 5 lg ЭИД₅₀/0,1см³ и инкубировали различное время. Затем из каждой опытной группы случайным образом отбирали 4 живых и 4 погибших эмбриона (согласно результатам овоскопии перед охлаждением). От указанных эмбрионов отбирали экстраэмбриональную жидкость и подвергали исследованию в РГА, определяли титр гемагглютинирующей активности (ГА) вируса в материале (таблица 4).

Таблица 4 – Влияние времени инкубации на накопление штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни в куриных эмбрионах

№ группы	Время инкубации, ч	Количество живых эмбрионов, %	Количество погибших эмбрионов, %	Средний титр ГА ЭЭЖ от погибших эмбрионов, log ₂ ГАЕ	Средний титр ГА ЭЭЖ от живых эмбрионов, log ₂ ГАЕ
1	30	94,4	6,6	0,00	4,00 ± 0,20*
2	36	91,7	8,3	5,25 ± 0,20	4,25 ± 0,20
3	42	73,3	26,7	6,75 ± 0,20	5,00 ± 0,26
4	48	31,6	68,4	7,75 ± 0,20	6,75 ± 0,20
5	54	27,4	73,6	5,75 ± 0,20	2,00 ± 0,26
6	60	21,6	78,4	4,50 ± 0,22	0,00

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

На основании полученных данных заключили, что титр гемагглютинирующей активности достигал своего максимального значения на 48-м часу инкубации: $7,75 \log_2$ ГАЕ в погибших эмбрионах и $6,75 \log_2$ ГАЕ в живых эмбрионах. Таким образом установили, что оптимальное время культивирования производственного штамма вируса НБ «ВНИИЗЖ G7» составило 48 ч.

Подбор режима инаktivации штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни. Для проведения исследований по подбору режима инаktivации был использован 15%-й водный раствор 1-(2-аминоэтил)-азиридина. Инфекционная активность вирусосодержащей суспензии (ЭЭЖ) вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» до инаktivации составляла $9,0 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$.

В среду с вирусной суспензией вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» вводили раствор 1-(2-аминоэтил)-азиридина в конечных концентрациях 0,05, 0,1 и 0,25%. В процессе обработки при температуре 37°C каждые 4 часа проводили отбор проб образцов ЭЭЖ с целью определения инфекционной активности вируса методом титрования инаktivируемой суспензии на СПФ-КЭ (таблица 5).

Таблица 5 – Влияние концентрации 1-(2-аминоэтил)-азиридина на инфекционную активность вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7»

Время инаktivации (ч)	Концентрация 1-(2-аминоэтил)-азиридина, %		
	0,05	0,1	0,25
	Инфекционный титр вируса (объединенная проба), $\lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$		
0	9,00	9,00	9,00
4	8,75	8,50	8,25
8	8,25	7,75	6,75
12	7,75	7,25	6,00
16	6,75	5,50	3,50
20	6,00	4,00	2,25
24	5,25	2,75	0,00
28	3,75	0,00	0,00
32	2,50	0,00	0,00
36	0,00	0,00	0,00

Как видно из представленных данных в таблице 5, время инаktivации исследуемого штамма вируса зависело от концентрации 1-(2-аминоэтил)-азиридина. Потеря инфекционной активности происходила через 36, 28 и 24 ч при концентрации 1-(2-аминоэтил)-азиридина 0,05, 0,1 и 0,25%, соответственно. Таким образом установили, что наиболее эффективным и оптимальным являлся режим инаktivации вируса 1-(2-аминоэтил)-азиридином 0,25% концентрации в течение 24 ч при температуре 37°C .

Подбор адъювантов для инактивированной вакцины на основе вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7». Целью исследования являлся подбор адъюванта, способствующего формированию напряженного гуморального иммунитета у вакцинированных птиц. В качестве активного компонента экспериментальных образцов вакцины использовали антиген вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» в составе ЭЭЖ инфицированных эмбрионов кур. Специфическая гемагглютинирующая активность антигена вируса составила $7 \log_2$ (1:128) ГАЕ. Исследование проводили на цыплятах яичного кросса в возрасте 28 суток, серонегативных к вирусу НБ. Для проведения иммунизации птицу разделили на 2 опытные группы численностью 50 голов в каждой. Группу №1 вакцинировали вакциной на основе адъюванта «Coralvac RZ 528», группу №2 – вакциной на основе адъюванта «Montanide ISA 78 VG». Препараты вводили внутримышечно в область груди в объеме 0,5 см³. Контрольную группу не вакцинировали. В группах иммунизированных и интактных птиц проводили контрольное заражение через 5, 10, 15, 20 и 25 суток после вакцинации (п/в). Для этого брали по 10 голов из каждой опытной группы и 10 голов из группы контроля (таблица 6).

Таблица 6 – Сроки формирования и напряженность иммунитета у птиц, иммунизированных вакциной против НБ на основе адъювантов «Coralvac RZ 528» и «Montanide ISA 78 VG»

Адъювант в составе вакцины	Сутки после вакцинации, сут.	Титры антител в РТГА соответственно антигену вируса НБ, $\log_2(T \pm S)^*$		Отношение клинически больных/ павших птиц к общему числу животных в группе
		«Ла-Сота»	«ВНИИЗЖ G7»	
«Coralvac RZ 528»	5	0,1±0,06	0,4±0,08	10/10
	10	0,8±0,07	1,5±0,16	5/10
	15	4,9±0,12	6,2±0,10	3/10
	20	5,8±0,11	8,3±0,11	2/10
	25	6,0±0,12	8,6±0,12	0/10
«Montanide ISA 78 VG»	5	0,9±0,09	1,1±0,09	10/10
	10	1,5±0,14	3,5±0,15	2/10
	15	5,8±0,14	7,8±0,10	0/10
	20	6,3±0,14	8,5±0,15	0/10
	25	6,6±0,14	8,9±0,11	0/10
Контроль	5	0,0	0,0	10/10
	10	0,0	0,0	10/10
	15	0,0	0,0	10/10
	20	0,0	0,0	10/10
	25	0,0	0,0	10/10

Примечания: * - средний логарифмический титр антител и его стандартная ошибка

Полученные результаты (таблица 6) позволили установить, что через пять сут после вакцинации в опытных группах количество выявленных клинических признаков болезни и смертность были неотличимы от контроля. После заражения, проведенного через 10 сут с момента иммунизации, протективная защита в группе птиц, привитых вакциной на основе адъюванта «Coralvac RZ 528», составила 50% против 80% в группе «Montanide ISA 78 VG».

Оба адъюванта способствовали формированию у птиц минимального протективного уровня антител против вируса НБ, равного $5 \log_2$ ГАЕ, на 15-е сутки п/в. Тем не менее, в группе цыплят, привитых вакциной на основе «Montanide ISA 78 VG», через 15 суток протективная защита после контрольного заражения была 100%, а в группе «Coralvac RZ 528» – 70%. Через 20 сут п/в защита в опытной группе «Coralvac RZ 528» составила 80% против 100% в группе «Montanide ISA 78 VG». Только к 25-му дню после иммунизации у группы птиц, привитых вакциной на основе адъюванта «Coralvac RZ 528», после контрольного заражения была отмечена 100% сохранность цыплят.

Дальнейшим этапом диссертационной работы стало изучение биологических свойств штамма «NDV-Saratov» вируса НБ субгенотипа VII.1.1 с целью его депонирования в качестве референтного для проведения опытов с контрольным заражением. Вирусный изолят NDV/rus/chicken/Saratov/2403-3/22, послуживший источником для получения штамма, был выделен в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2022 г. из проб патологического материала, полученного от домашней птицы из ЛПХ Саратовской области.

Определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov». Метод заключался в установлении титра инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса НБ штамма «NDV-Saratov» при титровании на СПФ-КЭ (таблица 7).

Таблица 7 – Инфекционная и гемагглютинирующая активность вируса НБ штамма «NDV-Saratov» на куриных эмбрионах

№ опыта	Инфекционная активность вируса, $\lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$	Гемагглютинирующая активность вируса, $\log_2 \text{ ГАЕ}$
1	9,00	6,00
2	9,00	7,00
3	9,25	6,00
Среднее значение ($\pm$ S)	$9,08 \pm 0,16$	$6,33 \pm 0,31$

Примечания: S - стандартная ошибка

В результате исследования было установлено, что полученные значения инфекционной и гемагглютинирующей активности позволяют использовать штамм «NDV-Saratov» в качестве референтного.

Определение индекса интрацеребральной патогенности вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov». Вирулентность штамма «NDV-Saratov» вируса НБ устанавливали путем определения индекса интрацеребральной патогенности (ICPI) на цыплятах, полученных из СПФ яиц, возрастом 1 сут. Для заражения использовали аллантоисную жидкость с титром в РГА 2⁹ (1/512), разведенную стерильным физиологическим раствором. Результаты приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Определение ICPI штамма «NDV-Saratov» вируса НБ генотипа VII

Клиническое состояние птицы	Сутки наблюдения, сут								Всего	Клинический показатель (W), баллы
	1	2	3	4	5	6	7	8		
здоровая	0	1	0	0	0	0	0	0	1 x 0	0
больная	0	9	0	0	0	0	0	0	9 x 1	9
павшая	0	0	10	10	10	10	10	10	60 x 2	120
Сумма баллов										129

На основании баллов, присвоенных каждой птице в ходе эксперимента (таблица 8), произвели расчет ICPI изучаемого вируса:

$$ICPI = 129/80 = 1,6.$$

Установили, что индекс интрацеребральной патогенности штамма «NDV-Saratov» вируса НБ составил 1,6 и превысил установленное ВОЗЖ значение 0,7, что позволило характеризовать штамм как велогенный.

Оценка безвредности вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ. Для проведения исследования были сформированы 2 опытные группы в количестве 10 голов в каждой, а также контрольная группа из 10 голов. Птицам опытных групп вводили внутримышечно образцы инаktivированных вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти», эмульгированных с добавлением адъювантов «Coralvac RZ 528» и «Montanide ISA 78 VG», в двукратном прививном объеме (1,0 см³). Птицам контрольной группы вводили внутримышечно физиологический раствор в объеме 1,0 см³. В течение 21 суток оценивали клиническое состояние птицы с целью выявления изменений в общем и в местах введения вакцины. По истечении срока наблюдений проводили диагностический убой птиц и патологоанатомический осмотр точек введения препарата и окружающих тканей на наличие в них патологических изменений. Вакцину считали ареактогенной и

безвредной, если описанные прижизненные или посмертные явления отсутствовали. Результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Клиническое состояние и патологические изменения тканей птиц, привитых инактивированными вакцинами в двукратной дозе

№ группы	Вакцина и адъювант в составе вакцины	Оценка состояния птиц	Степень поражения тканей
1	«ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» («Coralvac RZ 528»)	в норме	нет поражений
2	«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» («Coralvac RZ 528»)	в норме	нет поражений
3	«ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» («Montanide ISA 78 VG»)	в норме	нет поражений
4	«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» («Montanide ISA 78 VG»)	в норме	нет поражений
5	контроль	в норме	нет поражений

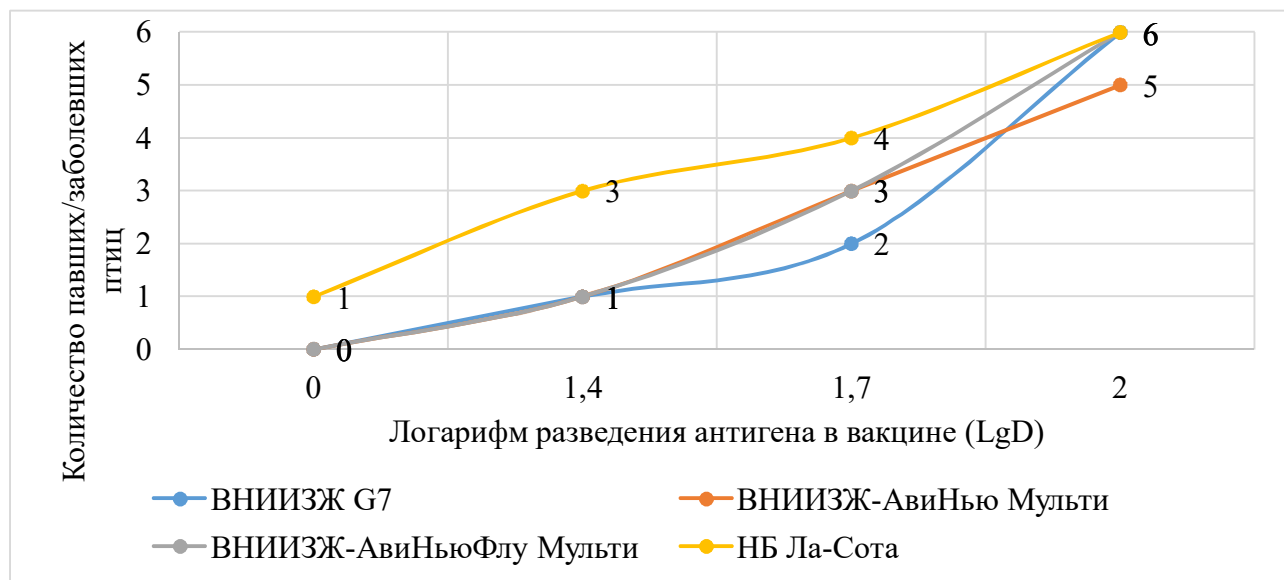
Результаты проведенного исследования (таблица 9) свидетельствуют о том, что вакцины против ньюкаслской болезни инактивированные эмульсионные «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти», эмульгированные с добавлением адъювантов «Coralvac RZ 528» и «Montanide ISA 78 VG», при применении в повышенной (двукратной) дозе были ареактогенны и безвредны для птиц 30-суточного возраста после внутримышечного введения.

Определение 50%-протективной дозы (PD₅₀) вакцин на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ. Объектом исследования являлись 4 инактивированные эмульсионные вакцины против ньюкаслской болезни птиц: моновалентная вакцина на основе штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ (далее в тексте «НБ-G7»); моновалентная вакцина на основе штамма «Ла-Сота» вируса НБ (далее в тексте «НБ-Ла-Сота»); вакцина «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» на основе штаммов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ; вакцина ассоциированная «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» на основе штаммов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ, а также антигенов низкопатогенного гриппа птиц H9N2.

Для производства экспериментальных образцов вакцин антигены разбавляли физиологическим раствором в соотношениях 1:25, 1:50, 1:100 или использовали неразведенными, затем эмульгировали с адъювантом «Coralvac RZ 528» (30:70). Исследование проводили на цыплятах яичного кросса возраста 28 сут. Птиц опытных групп вакцинировали в прививном объеме 0,5 см³, птиц контрольной группы не вакцинировали. Через 28 суток после вакцинации определяли титры антител в РТГА и проводили контрольное заражение. Протективный индекс рассчитывали по формуле: $Pr = 1 - (\sum c)/n$, где $\sum c$ – суммарное число больных и

павших птиц, n – исходное количество птиц в группе. На рисунке 1 представлены первичные данные по изучению протективной активности вакцин против НБ.

Рисунок 1 – Протективное действие вакцин против ньюкаслской болезни птиц, содержащих различные разведения антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ, после контрольного заражения штаммом «NDV-Saratov»



Из представленных на рисунке 1 данных видно, что вакцины с различным разведением антигена вызвали разную степень защиты цыплят от заражения вирулентным вирусом НБ генотипа VII. Наивысшую защиту вызывали вакцины с неразведенным антигеном, а наименьшую – с разведением антигена 1:100. Также установили, что вакцины «НБ-G7» и «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» обладали самым высоким протективным действием, несколько меньший протективный эффект продемонстрировала вакцина «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти», а наименьшей степенью защиты обладала вакцина «НБ-Ла-Сота».

Методом регрессионного анализа определяли показатель PD_{50} , характеризующий протективный потенциал тестируемых вакцин. Установили, что наибольшим протективным потенциалом обладали препараты «НБ-G7» и «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти», которые в прививном объеме содержали $166 PD_{50}/0,5\text{см}^3$ и $164 PD_{50}/0,5\text{см}^3$ соответственно. Следующим по данному показателю был препарат «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти», содержащий $127 PD_{50}/0,5\text{см}^3$. Вакцина «НБ-Ла-Сота» имела наименьшую оценку, которая составила $81 PD_{50}/0,5\text{см}^3$.

Также оценивали титр поствакцинальных антител к вирусу ньюкаслской болезни генотипов II и VII на 28 сутки после вакцинации (таблица 10).

Таблица 10 – Гемагглютинирующая активность сывороток крови цыплят через 28 суток после иммунизации инаktivированными вакцинами, содержащими различные разведения антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни

Вакцина	Разведение антигена в вакцине	Титр антител ($\log_2 T$) соответственно использованному антигену	
	D (IgD)	«ВНИИЗЖ G7»	«Ла-Сота»
«НБ-G7»	(0) 1	$9,70 \pm 0,09^*$	$9,10 \pm 0,09$
	25 (1,4)	$8,40 \pm 0,08$	$7,70 \pm 0,10$
	50 (1,7)	$7,00 \pm 0,11$	$6,10 \pm 0,10$
	100 (2,0)	$6,20 \pm 0,11$	$5,50 \pm 0,10$
«ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти»	(0) 1	$10,00 \pm 0,12$	$9,30 \pm 0,11$
	25 (1,4)	$9,20 \pm 0,12$	$6,80 \pm 0,12$
	50 (1,7)	$7,90 \pm 0,12$	$2,80 \pm 0,14$
	100 (2,0)	$5,30 \pm 0,12$	$2,50 \pm 0,10$
«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти»	1 (0)	$8,10 \pm 0,10$	$6,40 \pm 0,11$
	25 (1,4)	$5,40 \pm 0,10$	$3,90 \pm 0,10$
	50 (1,7)	$5,40 \pm 0,11$	$3,70 \pm 0,12$
	100 (2,0)	$4,40 \pm 0,10$	$2,60 \pm 0,10$
«НБ-Ла-Сота»	1 (0)	$7,20 \pm 0,10$	$9,30 \pm 0,10$
	25 (1,4)	$6,20 \pm 0,12$	$8,10 \pm 0,09$
	50 (1,7)	$5,50 \pm 0,08$	$7,00 \pm 0,12$
	100 (2,0)	$5,20 \pm 0,09$	$6,80 \pm 0,14$

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

Исследования продемонстрировали, что все четыре вакцины способствовали формированию гуморального иммунитета к вирусу НБ у цыплят, а титр антител зависел от разведения антигена в вакцине. Титры антител после вакцинации не разведенным антигеном составляли от $6,40 \log_2$ ГАЕ до $10,00 \log_2$ ГАЕ. Максимальные показатели были достигнуты при использовании вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «НБ-Ла-Сота» ($9,30 \log_2$ ГАЕ и $9,30 \log_2$ ГАЕ соответственно) в отношении антигена «Ла-Сота», а также вакцин «НБ-G7» и «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» в отношении антигена «ВНИИЗЖ G7» ($9,70 \log_2$ ГАЕ и $10,00 \log_2$ ГАЕ, соответственно). Эффективность образования иммунных комплексов была выше в гомологичной системе. Моновалентная вакцина из штамма «ВНИИЗЖ G7» обладала наибольшим протективным действием в отношении высоковирулентного вируса НБ генотипа VII. Вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» показали меньшую, но все же более высокую протективную активность по сравнению с моновалентной вакциной из штамма «Ла-Сота».

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

4.1 Выводы

1. Изучены основные биотехнологические характеристики штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1. Установлено, что оптимальной системой культивирования штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ являются эмбрионы кур, заражение которых в дозе 5 lg ЭИД₅₀ позволяет получать вирусосодержащий материал с инфекционной активностью не ниже 9,0 lg ЭИД₅₀/см³ и гемагглютинирующей активностью не ниже 7,0 log₂ ГАЕ;

2. Режим инаktivации штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ 1-(2-аминоэтил)-азиридином 0,25% концентрации в течение 24 ч при температуре 37°C является оптимальным для штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни;

3. При подборе адъюванта для инаktivированных вакцин установлено, что адъювант «Montanide ISA 78 VG» стимулирует формирование напряженного иммунного ответа у птиц на 10 суток раньше по сравнению с адъювантом «Coralvac RZ 528»;

4. Получен и депонирован в качестве референтного штамм «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 для стандартизации метода контрольного заражения при оценке эффективности препаратов специфической профилактики ньюкаслской болезни;

5. Отмечено, что титры поствакцинальных антител в РТГА с антигенами вируса ньюкаслской болезни генотипа II и генотипа VII были выше в отношении гомологичного антигена;

6. Вакцины на основе штамма вируса НБ субгенотипа VII.1.1 «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» вызывали формирование у птиц напряженного гуморального иммунитета к вирусу НБ и являлись безвредными для птиц;

7. Вакцины на основе антигена вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 «ВНИИЗЖ G7» демонстрировали выраженный уровень защиты поголовья при введении в прививном объеме и имели высокие показатели 50%-протективной дозы: 166 PD₅₀/0,5см³ для моновалентной вакцины из штамма «ВНИИЗЖ G7», 164 PD₅₀/0,5см³ для вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и 127 PD₅₀/0,5см³ для вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти»). Данные значения были выше аналогичного показателя для моновалентной вакцины из штамма «Ла-Сота», равного 81 PD₅₀/0,5см³.

4.2 Практические предложения

Для практического использования разработаны следующие документы:

– СТО 00495527-0483-2024. Вакцина против ньюкаслской болезни инаktivированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти»;

– СТО 00495527-0468-2024. Вакцина против ньюкаслской болезни (G7 и Ла-Сота) и гриппа птиц H9N2 (Y280 и G1) ассоциированная инактивированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти».

В ходе произведенной работы штамм «NDV-Saratov» депонирован во Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных (ГКШМ) ФГБУ «ВНИИЗЖ», под регистрационным номером: № 789-деп / 25-6 – ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Получен патент на штамм (в соавторстве): RU2821028C1 «Штамм "ВНИИЗЖ G7" вируса ньюкаслской болезни птиц для изготовления биопрепаратов для диагностики и специфической профилактики ньюкаслской болезни птиц».

4.3 Перспективы дальнейшей разработки темы

Изучение биологических свойств вирусов ньюкаслской болезни генотипа VII, а также возможности их потенциального использования в производственных целях имеет важное значение для актуализации вакцинных штаммов и перспективы разработки новых биопрепаратов. Дальнейшее изучение иммунобиологических свойств вакцин против ньюкаслской болезни, в особенности их протективного действия в отношении высоковирулентных штаммов вируса НБ субгенотипа VII.1.1, является значимым для улучшения мер специфической профилактики ньюкаслской болезни птиц.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Вершинина, М.А.** Изучение свойств вируса болезни Ньюкасла VII генотипа на куриных эмбрионах / М. А. Вершинина // Молодые ученые - науке и практике АПК : Материалы Международной научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых, Витебск, 25–26 апреля 2024 года. – Витебск: Витебская государственная академия ветеринарной медицины, 2024. – С. 660-662.
2. **Вершинина, М.А.** Изучение инфекционного процесса у кур при различных способах заражения вирусом ньюкаслской болезни генотипа VII / М.А. Вершинина, Н.В. Мороз, С.В. Фролов, Д.Л. Долгов, Е.В. Курненко, Л.О. Щербакова // Ветеринария сегодня. – 2025. – Т. 14. – № 4. – С. 401-409.
3. **Вершинина, М.А.** Определение индекса интрацеребральной патогенности полевого изолята вируса болезни Ньюкасла VII генотипа / М.А. Вершинина, Н.В. Мороз, С.В. Фролов // Материалы Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 150-летию со дня рождения А.Я. Миловича. – Москва : РГАУ - МСХА, 2024. – С. 248-250.
4. **Вершинина М.А., Мороз Н. В., Фролов С. В.** Изучение динамики формирования иммунитета у кур при вакцинации против ньюкаслской болезни биопрепаратами на основе различных адъювантов // Научно-практический,

теоретический журнал «Ветеринария, зоотехния и биотехнология». 2026. № 1. Т. 2. С. 74–83.

5. Мороз, Н.В. Иммунологические свойства инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов вируса VII и II генотипа / Н.В. Мороз, Д.Л. Долгов, И.А. Комаров, Кулаков В.Ю., **Вершинина М.А.** // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 41-47.

6. Патент № 2821028 С1 Российская Федерация, МПК С12N 7/00. Штамм “ВНИИЗЖ G7” вируса ньюкаслской болезни птиц для изготовления биопрепаратов для диагностики и специфической профилактики ньюкаслской болезни птиц: № 2024103509: заявл. 13.02.2024: опубл. 17.06.2024 / Н. В. Мороз, И. А. Чвала, **М.А. Вершинина**, Д.Л. Долгов, О.И. Ручнова, Н.А. Гусева, И.А. Комаров, Д.Б. Андрейчук ; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение “Федеральный центр охраны здоровья животных” ФГБУ “ВНИИЗЖ”.