

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
кандидат ветеринарных наук
Мороз Наталья Владимировна

Владимир 2026

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1 Общие сведения о ньюкаслской болезни.....	11
1.2 Возбудитель болезни.....	12
1.3 Эпизоотологические данные	14
1.4 Патогенез и клинические признаки.....	15
1.5 Патологоанатомические изменения	17
1.6 Диагностика ньюкаслской болезни.....	18
1.7 Профилактика и меры борьбы.....	19
1.8 Вакцинопрофилактика ньюкаслской болезни, вызванной вирусами VII генотипа.....	20
1.9 Производство и контроль качества вакцин.....	27
1.10 Заключение по обзору литературы	29
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	32
2.1. Материалы	32
2.2 Методы исследований.....	33
3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	39
3.1 Изучение биологических свойств вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 штамма «ВНИИЗЖ G7»	39
3.1.1 Определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7».....	39
3.1.2 Определение стабильности фенотипа штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни.....	40
3.1.3 Подбор оптимальной заражающей дозы вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7».....	41
3.1.4 Подбор оптимального времени культивирования штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни.....	42
3.1.5 Подбор режима инаktivации штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни.....	45
3.1.6 Подбор адъювантов для инаktivированной вакцины на основе вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7».....	46
3.2 Изучение биологических свойств вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 штамма «NDV-Saratov»	51

3.2.1 Генетическая идентификация вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov»	51
3.2.2 Определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov»	54
3.2.3 Определение 50%-летальной дозы (LD_{50}) вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov» на цыплятах.....	55
3.2.4 Определение вирулентности вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov» на куриных эмбрионах	56
3.2.5 Определение индекса интрацеребральной патогенности вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov»	58
3.2.6 Изучение динамики инфекционного процесса у кур при заражении вирусом ньюкаслской болезни генотипа VII штаммом «NDV-Saratov»	59
3.3 Изучение иммунобиологических свойств инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигена вируса НБ субгенотипа VII.1.1	66
3.3.1 Оценка антигенной активности вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ	66
3.3.2 Оценка безвредности вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ	68
3.3.3 Определение оптимального объема прививной дозы вакцин.....	70
3.3.4 Определение 50%-протективной дозы (PD_{50}) вакцин на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни	73
3.4 Обсуждение результатов	82
4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	89
4.1 Выводы	89
4.2 Практические предложения.....	90
4.3 Перспективы дальнейшей разработки	90
5. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	91
6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	92
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	116

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В настоящее время птицеводство оправданно считается одной из наиболее значимых отраслей российской экономики. Среди многих видов животноводства разведение птицы является относительно простым при своей высокой эффективности, а птицеводческая продукция служит важным и доступным источником белка.

За последние годы птицеводство в России существенно нарастило обороты как внутреннего производства, так и экспортной продукции. По данным Росстата, производство скота и птицы в сельхозпредприятиях в 2024 году составило 13,8 млн тонн, а число птицы в этом секторе выросло на 3,3%, до 480,8 млн голов [32].

Тем не менее, существуют факторы, способные нанести экономический ущерб птицеводческим предприятиям во многих странах, в том числе в Российской Федерации. Сельскохозяйственная птица восприимчива к ряду опасных заболеваний как вирусной, так и бактериальной природы, в случае возникновения которых все больное поголовье подлежит выбраковке и немедленному убою, а на продукцию накладывается торговое эмбарго. К таким заболеваниям относятся и ньюкаслская болезнь (НБ), очаги которой ежегодно регистрируются по всему миру.

Ньюкаслская болезнь птиц впервые была официально выявлена в Индонезии в 1926 году и длительное время не вызывала общемировых опасений, однако масштабная вспышка болезни, возникшая на Ближнем Востоке в шестидесятых годах 20-го века, привела к распространению инфекции почти на все континенты [101]. С тех пор очаги НБ фиксируются во многих странах мира, нанося серьезный ущерб птицеводческой отрасли. По данным Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ), в 2024 году было зарегистрировано свыше 1,5 тыс вспышек НБ в 32 странах Америки, Азии, Африки и Европы [110], наибольшее число пришлось на Нигерию (363), Пакистан (278) и Ирак (245). В 2025 году в 30 странах мира зафиксирован по меньшей мере 891 очаг болезни, большинство из которых – на территории Индонезии (241) [110]. По состоянию на февраль 2026

года, напряженная эпизоотическая ситуация сохраняется в Польше, где с начала года подтверждено 16 случаев НБ [110].

Хотя все вирусы ньюкаслской болезни относятся к одному серотипу, между различными генотипами наблюдается антигенное и генетическое разнообразие [83]. Все больший интерес в последние годы вызывает VII генотип, возникший еще в 1990-х годах, но преобладающий в настоящее время в Азии и на Ближнем Востоке, а также в Европе, Южной Африке и Южной Америке [191]. В силу своей высокой вирулентности, он вызывает тяжелую форму болезни среди кур и других видов коммерческой птицы вплоть до 100% летальности поголовья.

Несмотря на то, что во многих странах осуществляются интенсивные программы вакцинации, вспышки НБ, вызванные вирусом VII генотипа, иногда регистрируются даже в вакцинированных хозяйствах [137, 202]. Кроме того, вирусы VII генотипа способны расширять ареал своего распространения, что иногда приводит к заболеванию водоплавающих птиц [184]. Случаи возникновения болезни среди иммунизированного поголовья могут указывать на недостаточную эффективность существующих вакцин ввиду антигенных различий между вакцинным и полевым штаммами, или схем вакцинации, применяемых для борьбы с заболеванием [191].

В последнее время многие авторы рассматривают вопросы антигенного несоответствия между вакцинными и полевыми штаммами вируса как острую проблему, способную непосредственно влиять на результат вакцинации. В связи с этим возникает необходимость актуализации производственных штаммов вируса ньюкаслской болезни и разработки инаktivированных вакцин на основе антигенов вируса НБ VII генотипа, а также оптимальных схем их применения.

Степень разработанности проблемы. Ньюкаслская болезнь птиц известна с 20-х годов прошлого столетия, и вот уже на протяжении века остается актуальной темой научных публикаций. Во многих 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 ньюкаслской болезни. Наиболее известными зарубежными экспертами являются Doyle T.M., Alexander D.J., Aldous E.W., Miller R.J. и многие другие. Данные, представленные в их публикациях, легли в основу обзорных и практических статей, посвященных НБ. В 1963 г. вышла фундаментальная работа российского академика В.Н. Сюрица «Псевдочума птиц», в которой детально рассмотрены основные аспекты ньюкаслской болезни. Эпизоотическую ситуацию по НБ среди отечественных авторов изучали Караулов А.К., Ирза В.Н., Борисов В.В., Глущенко А.В. и другие [23, 24, 46].

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 [3, 13, 41]. Исследования кандидата биологических наук Глущенко А.В. предоставили множество данных о различных изолятах вируса НБ, включая вирусы, относящиеся к генотипу VII [7]. Тем не менее, вакцины отечественного производства созданы преимущественно 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 НБ VII генотипа, а их эффективность в защите поголовья и снижении вирусывыделения подтверждена рядом исследований [135, 177, 202].

В связи с вышеизложенными обстоятельствами, 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 РФ 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 генотипа VII субгенотипа VII.1.1 вируса ньюкаслской болезни 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 создания диагностических наборов и оценки эффективности вакцин против НБ методом контрольного заражения.

Методология и методы исследования. В ходе выполнения исследований использованы вирусологические (вирусовыделение, культивирование, титрование вируса), молекулярно-генетические (полимеразная цепная реакция, секвенирование, филогенетический анализ), а также серологические (реакция гемагглютинации, реакция торможения гемагглютинации), 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 адъюванта 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 124 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.

Место выполнения работы. Исследования по теме диссертационной работы выполнены в период с 2023 по 2025 гг. в ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (г. Владимир, мкр. Юрьевец).

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.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Общие сведения о ньюкаслской болезни

Ньюкаслская болезнь (НБ, болезнь Ньюкасла, псевдочума птиц) представляет собой высококонтагиозную вирусную болезнь, угрожающую птицеводческому бизнесу во всем мире [73]. К инфекции восприимчивы более 240 видов домашних и диких птиц [74], что способствует ее широкому распространению и одновременному появлению в различных регионах земного шара [47], а в результате эволюции вируса возникают новые генотипы, представленные высоковирулентными штаммами [14].

В Кодексе здоровья наземных животных ньюкаслская болезнь включена в перечень заболеваний, требующих особого внимания и обязательных к нотификации [154]. Однако не все формы инфекции, связанные с вирусом ньюкаслской болезни, наносят катастрофический экономический ущерб птицеводству. Согласно ВОЗЖ, ньюкаслской болезнью называется инфекция птиц, вызванная птичьим парамиксовирусом серотипа 1, при этом вирус должен либо обладать индексом интрацеребральной патогенности (ICPI) у суточных цыплят равным или превышающим значение 0,7, либо иметь определенную последовательность многоосновных аминокислот (остатков аргинина или лизина) на С-конце белка F2 и фенилаланин в 117 положении, на N-конце белка F1 [111, 154].

Считается, что болезнь впервые появилась у диких птиц в Шотландии более 150 лет назад [76, 208]. Первые известные вспышки были зафиксированы в Яве, Индонезия, в 1926 году, затем, в 1927 году, в Корее [75] и в Ньюкасл-апон-Тайн, Англия [62]. После обнаружения ньюкаслская болезнь еще десятилетия считалась эндемичной и не вызывала глобальных опасений, однако серьезная вспышка заболевания, возникшая на Ближнем Востоке в конце 1960-х годов, распространилась почти на все континенты, чему во многом способствовали масштабные преобразования в птицеводстве после Второй мировой войны [101]. Тогда же в мире остро встала проблема вакцинации коммерческой птицы против ньюкаслской болезни, что привело к созданию большого числа различных живых

вакцин, однако существует мнение, что бесконтрольная вакцинация способствовала заносу возбудителя в регионы, где он ранее не встречался [101].

Эпизоотическая ситуация по ньюкаслской болезни, согласно данным ВОЗЖ, имеет мировой масштаб и остается напряженной. В 2024 году болезнь затронула 32 страны, а общее количество вспышек составило 1611 [110]. В 2025 году в 30 странах мира зафиксирован 891 очаг болезни, из которых 241 выявлен на территории Индонезии [110]. Среди стран Европы большинство случаев НБ зарегистрировано в Польше (77), при этом по состоянию на февраль 2026 года эпизоотическая ситуация в стране остается напряженной [110]. Подобная динамика свидетельствует о сохранении высокой угрозы распространения болезни среди домашней птицы в различных регионах мира.

1.2 Возбудитель болезни

Болезнь вызывают птичьи парамиксовирусы типа 1 (APMV-1), известные также как вирусы ньюкаслской болезни (ВНБ). Согласно таксономии, вирус относится к порядку *Mononegavirales*, поскольку его геном представлен одноцепочечной отрицательной молекулой РНК, а сам вирус имеет спиральную симметрию капсида [124, 154]. Ранее причисляемый к роду *Rubulavirus*, в настоящее время ВНБ отнесен к роду *Orthoavulavirus* и виду *Orthoavulavirus javaense* (АОАВJ) подсемейства *Avulavirinae* семейства *Paramyxoviridae* [69, 106, 122].

Снаружи вирион покрыт липидной двухслойной мембраной, образованной из мембраны клетки-хозяина [108]. Кодируемые белки вирионов, общие для всех представителей семейства, включают: РНК-связывающий белок (NP), фосфопротеин (P) и крупную РНК-зависимую РНК-полимеразу (L); негликозилированный белок внутренней мембраны или матрикса (M) и два гликозилированных белка оболочки, включающих белок слияния (F) и белок прикрепления (G, H или HN) [106]. Белки, в свою очередь, расположены в определенном порядке, имеющем следующий вид: 3'-NP-P-M-F-HN-L-5' [120, 189],

и выполняют определенные функции, обеспечивающие жизнедеятельность вируса.

Устойчивость вируса ньюкаслской болезни во внешней среде зависит от многих факторов, таких как температура, свет, влажность, характер инфицированной поверхности. Вирус ньюкаслской болезни относительно стабилен по своей природе и способен сохранять активность в широком диапазоне температуры и pH, однако было установлено, что ВНБ становится нестабильным при температуре 56°C, а также чувствителен к детергентам, липидным растворителям, формальдегиду и окислителям [165].

Хотя все вирусы ньюкаслской болезни являются представителями APMV-1 и относятся к одному серотипу, между различными генотипами наблюдается антигенное и генетическое разнообразие [83]. Длина генома и особенности нуклеотидных последовательностей изолятов легли в основу их разделения на классы (класс I и класс II) [84, 138]. Последовательность сайта расщепления белка F лежит в основе филогенетического анализа вируса и помогает оценить происхождение и распространение вспышек заболевания [84], поскольку принято считать, что именно эта область является ведущим молекулярным фактором, определяющим вирулентность [161, 178].

К первому классу относятся лентогенные, как правило авирулентные для кур штаммы, выявленные у водоплавающих, диких и домашних птиц [84]. Вирусы класса II наиболее разнообразны и оказывают значительное экономическое воздействие на птицеводческую отрасль в случае возникновения вспышки болезни [172]. К примеру, генотипы V, VI, VII и VIII являются преобладающими среди циркулирующих по всему миру и содержат только вирулентные вирусы [159]. При этом вирусы VI генотипа как правило циркулируют среди голубей и выделяются в отдельную группу птичьих парамиксовирусов, известную как голубиные парамиксовирусы-1 (PPMV-1) [182].

Все больший интерес в последние годы вызывает VII генотип, возникший еще в 1990-х годах, но преобладающий в настоящее время в Азии и на Ближнем Востоке, а также в Европе, Южной Африке и Южной Америке [191]. Вирусы VII

генотипа способны вызывать признаки болезни и снижение продуктивности даже у вакцинированного поголовья и расширять ареал своего распространения, что иногда приводит к заболеванию водоплавающих птиц [184]. Представители VII генотипа первоначально были разделены на 2 субгенотипа: вирусы подтипа VIIa, которые появились в 1990-х годах на Дальнем Востоке и распространились в Европе и Азии, и вирусы подтипа VIIb, возникшие на Дальнем Востоке и распространившиеся в Южной Африке [115]. С течением времени классификация претерпела ряд изменений, и VII генотип включал в себя 8 субгенотипов, в том числе субгенотип VII-L (VIII), ассоциируемый в последние годы со вспышками ньюкаслской болезни в Иране [162] и других странах. В настоящее время введены новые номенклатурные критерии, в результате которых VII генотип включает 3 субгенотипа: VII.1.1, VII.1.2 и VII.2 [195]. Вирусы, ответственные за четвертую панзоотию ньюкаслской болезни, были отнесены к одному субгенотипу (VII.1.1), объединяющему предыдущие субгенотипы VIIb, VIId, VIIe, VIIj и VIII [195].

1.3 Эпизоотологические данные

К вирусу ньюкаслской болезни восприимчиво большое количество птиц, хотя вирулентность вируса и исход болезни варьируются в зависимости от конкретного вида [181]. Многочисленные виды домашней птицы, включая бройлеров, кур-несушек, голубей, уток, индеек, страусов, павлинов, фазанов, водоплавающих птиц и попугаев, подвержены заражению различными штаммами вируса НБ по всему миру [104]. Помимо домашних видов птиц, естественное или экспериментальное заражение было продемонстрировано по меньшей мере у 241 вида из 27 отрядов птиц [74].

Другие виды животных и человек также могут быть инфицированы вирусом ньюкаслской болезни [59], но о распространении вируса от человека к человеку никогда не сообщалось [200]. У людей заболевание характеризуется конъюнктивитом и, как правило, протекает в легкой форме и не вызывает осложнений [55].

Заражение ньюкаслской болезнью происходит в основном при вдыхании или проглатывании вируса, выделяемого инфицированными птицами с фекалиями и респираторными секретами в течение различного периода времени [77, 134], а также через конъюнктиву. Вирус может передаваться любым животным и любыми средами, в результате прямого или косвенного контакта зараженного объекта с восприимчивой домашней птицей [124]. Установлено, что птицы отряда Курообразные выделяют активный вирус в течение 1-2 недель после заражения, тогда как птицы подсемейства Пситтацин (попугаи, длиннохвостые и ара) – вплоть до 1 года после заражения, в основном с фекалиями и респираторными секретами [200, 206]. Некоторые авторы сообщают о том, что вакцинированные птицы могут выделять вирус в период от нескольких месяцев до года [51, 211]. Было также обнаружено, что некоторые изоляты вируса передаются вертикальным путем, то есть трансовариально вылупляющемуся цыпленку [183, 194], а также через фомиты [209]. Блохи, грызуны, насекомые, собаки и ряд животных-падальщиков также могут осуществлять перенос вируса НБ механическим путем с инфицированными фекалиями [91, 113].

Молодые особи как правило более восприимчивы к ньюкаслской болезни, чем взрослые птицы. Заболевание развивается быстро, и признаки проявляются у всего стада уже через 2 суток (в среднем через 4-6) при аэрогенной передаче инфекции, но инкубационный период может достигать и 15 суток при заражении фекально-оральным способом, особенно у птиц, содержащихся в клетках [52, 164]. Согласно ВОЗЖ, максимальный инкубационный период составляет 21 сутки.

1.4 Патогенез и клинические признаки

Трахея является одним из первых органов, которые поражает вирус ньюкаслской болезни, который затем распространяется макрофагами к регионарным лимфоидным органам, где размножается и вызывает первичную виремию [78]. Вторичная вирусемия возникает позднее, когда вирус распространяется по лимфатической системе и достигает эпителиальных клеток слизистой оболочки дыхательных путей, почек, пищеварительного тракта и

нервной системы [78]. Вирус ньюкаслской болезни может размножаться практически в каждом органе и в основном поражает пищеварительную, дыхательную и нервную системы [168]. Установлено, что как велогенные, так и мезогенные штаммы вируса способны размножаться в нейронах [163].

Клиническая картина ньюкаслской болезни у птиц разнообразна и зависит от вирулентности вируса, а также от степени восприимчивости организма. У зараженных кур могут проявляться различные клинические признаки: от легких респираторных или кишечных симптомов до тяжелой системной инфекции, приводящей к высокому уровню смертности и быстрому распространению инфекции [48]. В связи с этим ньюкаслская болезнь классифицируется на пять патотипов в зависимости от тяжести заболевания у кур: нейротропно-велогенный, висцеротропно-велогенный, мезогенный, лентогенный и бессимптомный [169].

Лентогенные штаммы ВНБ индуцируют субклиническую форму инфекции с легкими респираторными или кишечными симптомами и считаются маловирулентными [198]. Мезогенные штаммы обладают средней степенью вирулентности, вызывая респираторную инфекцию с умеренной смертностью (<10%), в то время как велогенные штаммы обладают высокой вирулентностью, вызывая смертность до 100% [56].

Характер клинических проявлений у кур также зависит от способа заражения инфекцией [121]. При естественном заражении через нос, глаза или рот болезнь обычно протекает с преобладанием респираторных признаков, а при внутримышечном, внутривенном или внутримозговом заражении — неврологических [108].

За день или два до появления клинических признаков в зараженном стаде птицы могут вести себя необычно: становятся вялыми, апатичными, сбиваются в кучу и сидят, нахохлившись. Часто наблюдается зеленоватая диарея. Другими симптомами ньюкаслской болезни являются депрессия, упадок сил, отеки головы и шеи, потеря веса [60, 96].

После общих признаков, как правило, появляются более специфические. Например, хрипы в трахее, паралич ног и кривошея обычно проявляются через

семь дней после инфицирования [107], однако вирулентные штаммы ВНБ могут вызывать гибель птиц без каких-либо явных симптомов [175]. Ввиду сильной вариабельности клинической картины, а порой и полного отсутствия симптомов заболевания, ньюкаслскую болезнь следует дифференцировать от высокопатогенного гриппа птиц, инфекционного бронхита, инфекционного ларинготрахеита, птичьей холеры, микоплазмоза и пситтакоза [142]. Данное обстоятельство подчеркивает важность проведения оперативных и точных диагностических исследований для своевременного выявления очага ньюкаслской болезни.

1.5 Патологоанатомические изменения

Вирус обнаруживается в легких, селезенке, почках, трахее, бурсальной сумке, железистом отделе желудка, слепой кишке и печени как у кур, так и у гусей [199]. При этом у кур вирус присутствует в головном мозге, а у гусей — нет [173]. У диких голубей гистопатологические изменения с инфильтрацией моноцитами были также обнаружены в головном мозге, почках, желудке, сердце и селезенке [126]. Кроме того, вирус ньюкаслской болезни может вызывать повреждение ткани поджелудочной железы у цыплят [199] и привести к снижению показателей роста [167].

Тем не менее, далеко не всегда заражение вирусом НБ сопровождается значительными патологическими изменениями. Кровоизлияния в веки, селезенку, трахею, преджелудок, слепые миндалины, а также яичники обычно наблюдаются у домашней птицы при инфицировании висцеротропным штаммом вируса [105, 169]. В легких возможны диффузные участки сильной гиперемии, а также многоочаговые, от точечных до экхиматозных кровоизлияния и некротические участки в легочной ткани. В области гребня иногда наблюдаются небольшие кровоподтеки и цианоз [82]. Нейротропный тип ВНБ не вызывает серьезных поражений желудочно-кишечного тракта, но вызывает многочисленные гистопатологические повреждения [190]. Этот тип также приводит к дегенерации нейронов, гиперемии и отеку головного мозга, глиозу и сателлитозу [96, 157].

У куриных эмбрионов заражение вирусом ньюкаслской болезни приводит к изменению белкового состава и кровоизлияниям во все части тела [64]. У некоторых птиц, особенно у тех, которые пали внезапно или имели в анамнезе неврологических симптомов, патологоанатомические изменения органов и туш могут быть выражены слабо или вовсе отсутствовать [105].

1.6 Диагностика ньюкаслской болезни

Диагностика ньюкаслской болезни, как правило, проводится путем выделения вируса с последующей идентификацией в молекулярных и серологических исследованиях [58]. Вирус ньюкаслской болезни можно выделить из трахеальных или клоакальных смывов, отобранных от живой птицы; от павших животных отбирают селезенку, легкие, кишечник и его содержимое, печень, почки, сердце и мозг, а также ороназальные мазки, согласно рекомендациям ВОЗЖ [105].

Вирусы ньюкаслской болезни хорошо культивируются в куриных эмбрионах, не содержащих специфических патогенов (СПФ), хотя для некоторых штаммов, например, парамиксовирусов голубей, используются только клеточные культуры [105]. Для выделения вируса подходят такие культуры, как фибробласты куриных эмбрионов (CEFs), клетки почек куриных эмбрионов (Cells), а также клеточные линии Hela и Vero [100].

Идентификация вируса может осуществляться с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР) или ОТ-ПЦР в реальном времени (RRT-PCR), а также серологических исследований с использованием реакции торможения гемагглютинации (РТГА) [58]. Кроме того, в диагностике ньюкаслской болезни возможно применение ОТ-ПЦР в реальном времени на основе флуорогенных зондов, лигазной цепной реакции (LCR), интеркалированной ДНК (SYBR Green) или флуорогенного праймера с расширенным спектром действия (LUX) [90].

Из числа серологических методов исследования реакция торможения гемагглютинации (РТГА) является наиболее распространенным, однако она эффективна не в каждом случае и имеет ряд ограничений, связанных с возможной

перекрестной реакцией [111]. Другие серологические тесты, такие как ИФА, также используются в диагностических лабораториях для оценки титра антител после вакцинации, но имеют ограниченную ценность для эпиднадзора и диагностики из-за почти повсеместного использования вакцин для домашней птицы [159]. В настоящее время происходит активное внедрение и других методов диагностики, таких как панель моноклональных антител, секвенирование, рестрикционный анализ и гибридизация [120].

Существует несколько способов установления вирулентности вирусов ньюкаслской болезни. Некоторые методы, такие как определение индекса внутривенной патогенности и среднего времени гибели эмбриона, утратили свою актуальность ввиду недостаточной достоверности, хотя могут быть использованы при изучении свойств вируса, выделенного не от кур [130, 198, 203]. Общепризнанными способами оценки вирулентности в настоящее время являются установление аминокислотной последовательности сайта расщепления белка F, а также индекс интрацеребральной патогенности, который определяется на односуточных СПФ цыплятах [111, 123, 131].

1.7 Профилактика и меры борьбы

Поскольку лечение против ньюкаслской болезни не разработано, выбраковка инфицированных птиц в сочетании с протоколами биобезопасности и вакцинации являются наиболее подходящими мерами борьбы со вспышками НБ [145]. Под биобезопасностью понимаются меры, принимаемые для предотвращения заноса и распространения инфекционных агентов среди восприимчивого поголовья [118]. Концепция охватывает политику и нормативные акты, защищающие сельское хозяйство, продовольствие и окружающую среду от биологических рисков [70]. Биозащита включает в себя все меры, направленные на исключение инфекционных агентов из незараженных помещений [132]. Для этого коммерческое поголовье должно быть изолировано от домашней птицы, диких птиц и любых иных животных, а сотрудники фабрики должны соблюдать гигиену и избегать контактов с птицами за ее пределами [53].

Общепринятые стратегии биобезопасности могут оказаться неэффективными в ряде случаев, например, в регионах, где птицеводством занимаются сельские жители [133]. Вакцинация, в свою очередь, является неотъемлемой частью программ борьбы с заболеванием [65] и одним из наиболее эффективных способов минимизации вспышки ньюкаслской болезни [87, 205].

Серьезные экономические потери, вызванные ньюкаслской болезнью, привели к необходимости разработки регламентов по контролю данного заболевания, однако эти регламенты отличаются в зависимости от политики каждой страны. В Нидерландах вакцинация является обязательной для всех птиц, в то время как в Швеции, Финляндии, Дании и на острове Ирландия проводится политика полного искоренения поголовья в случае вспышки и запрета на использование вакцин [148].

При выявлении ньюкаслской болезни хозяйство объявляется неблагополучным. Вспышки устраняются с помощью карантина, контроля за передвижением, изолирования и уничтожения популяции всех инфицированных и контактировавших с ними птиц, уборки и дезинфекции помещений [109]. Прекращается инкубация яиц и прием цыплят на выращивание, заложенные на инкубацию яйца уничтожают или утилизируют [30]. Карантин снимают по истечении срока в 30 дней с момента последнего подтвержденного случая заболевания и после проведения необходимых мероприятий по деконтаминации, а в случае, если поголовье птицы было ликвидировано полностью – через 5 дней после проведения заключительной дезинфекции всех птицеводческих помещений и вспомогательных объектов [30]. Для постоянного контроля необходимо регулярное проведение серологического мониторинга [103].

1.8 Вакцинопрофилактика ньюкаслской болезни, вызванной вирусами VII генотипа

Помимо грамотных подходов к биобезопасности, борьба с ньюкаслской болезнью достигается путем различных программ вакцинации стад с использованием живых и инактивированных вакцин [54]. Первая вакцина против

ньюкаслской болезни была применена в 1933 году на территории Англии, [98, 101] и с тех пор использование вакцин остается неизменным условием успешного контроля заболевания. Все изоляты ВНБ сгруппированы в один серотип, поскольку имеют довольно схожие иммунодоминантные эпитопы [153]. Таким образом, любой штамм вируса НБ теоретически может вызывать иммунный ответ, способный обеспечить перекрестную защиту от любого другого штамма вируса [99]. Тем не менее, современной тенденцией в борьбе с ньюкаслской болезнью является разработка вакцин, соответствующих генотипу, на основе циркулирующих в настоящее время изолятов вируса [142].

Традиционно существуют две основные группы производимых вакцин: инактивированные вакцины и модифицированные живые аттенуированные вакцины [158]. Однако в настоящее время разработаны и активно внедряются векторные вакцины, где в геном векторного вируса встроен фрагмент, кодирующей F-белок вируса НБ, который и индуцирует специфический иммунный ответ [34, 210]. Вакцины против НБ можно комбинировать с другими вакцинами для птиц (т.е. использовать в качестве поливалентных вакцин) для борьбы с экономически важными болезнями домашней птицы [136].

Во всем мире используется широкий спектр вакцин и протоколов вакцинации в зависимости от эндемичных штаммов, методов выращивания домашней птицы, доступа к холодовой цепи и многих других условий [134]. Оптимальным сроком для вакцинации считается период после снижения уровня материнских антител, что позволяет вакцинам вызвать хороший иммунологический ответ, но до того, как птица может подвергнуться воздействию вирулентного штамма вируса [82]. Обычно птиц либо вакцинируют после достижения 2-4-недельного возраста, когда большинство из них становятся восприимчивыми к заболеванию, либо вакцинируют 1-дневных цыплят, а затем, через 2-4 недели, проводят ревакцинацию [79].

Живые вакцины направлены на стимуляцию гуморального, а также слизистого и клеточного иммунитета. Их вводят птицам перорально, с помощью распыления (аэрозоля) или путем интраназального или конъюнктивального

закапывания [101]. При выборе штамма для создания живой вакцины важно учитывать степень его патогенности, а также методы применения вакцины, тяжесть побочных реакций и проблему антигенного родства между циркулирующими штаммами вируса [79]. Для производства вакцин применяется несколько различных штаммов, однако самыми распространенными являются лентогенные штаммы В1 и Ла-Сота [93]. Эти вирусы относятся ко II генотипу и демонстрируют большое сходство на генетическом и антигенном уровнях, а Ла-Сота пользуется большим спросом ввиду высокой иммуногенности: обладая тропизмом к дыхательной системе, вирус реплицируется и накапливается в организме кур в высоких титрах [88, 139, 192]. Штаммы I₂ и V4, относящиеся к I генотипу, также становятся материалом для живых вакцин, и главным их преимуществом является высокая термостабильность [57]. Среди мезогенных вакцинных штаммов активно используются штаммы Komarov, Hertfordshire, H [140, 193], Mukteshwar и Roakin, которые могут входить в состав бустерных вакцин [102, 148]. В отличие от лентогенных штаммов, мезогенные штаммы в составе живой вакцины имеют ряд недостатков: они небезопасны для цыплят в возрасте до восьми недель и могут вызывать проявление клинических признаков болезни [81].

Некоторые вирулентные штаммы были аттенуированы с помощью методов обратной генетики и имеют модификации сайта расщепления белка F, однако ни одна живая ослабленная вакцина, созданная с использованием этой технологии, еще не поступила в продажу [139]. Другая стратегия заключается в замене защитных антигенов F и HN лентогенного вируса соответствующими белками из распространенных вирулентных штаммов, при этом сайт расщепления F обычно мутирует [135]. Несколько живых рекомбинантных вакцин против ВНБ этого типа поступили в продажу в Корее (живая вакцина Himmvac Dalguban N (Plus)), в Египте (живая аттенуированная вакцина RINNOVAC™ELI-7) и Мексике (Genovax N5) [139].

С коммерческой точки зрения, использование живых вакцин является выгодным по причине их невысокой стоимости, а также возможности проводить иммунизацию птиц массовым методом. Живые вакцины против ньюкаслской

болезни обладают высокой безопасностью, поскольку вакцинные штаммы низко- или авирулентны и обычно не вызывают побочных эффектов у кур [139]. Однако при определенных условиях живые вакцины могут вызывать нежелательные реакции, такие как задержка роста, легкие респираторные симптомы, а в некоторых случаях – смертность и повышенную восприимчивость к другим патогенам [197]. Хотя ослабленные вирусы могут успешно индуцировать как иммунитет слизистых оболочек, так и системный иммунный ответ, существует риск обратных вирусных мутаций, которые способны возникать в полевых условиях [185]. Более того, аттенуированные вакцины могут защитить только от клинически выраженных форм заболевания, но не способны блокировать репликацию и выделение филогенетически отличающихся вирулентных изолятов, особенно тех, которые принадлежат к VII генотипу [149]. В результате птицы, вакцинированные живыми вакцинами, могут служить резервуарами возбудителя, выделяя значительное количество вируса в окружающую среду, что приводит к потенциальным вспышкам среди незащищенных птиц, находящихся с ними в контакте [174].

Инактивированная вакцина представляет собой биопрепарат, содержащий в себе биологические агенты, убитые физическими или химическими методами после амплификации и культивирования, в результате чего они теряют патогенность и сохраняют антигенность [117]. Адьюванты, добавляемые в вакцину, служат в качестве иммуногенных компонентов, поскольку убитый вирус сам по себе иммуногенностью не обладает, а наиболее распространенными адьювантами являются гидроксид алюминия и масляные эмульсии [193]. Компоненты вакцины эмульгируются вместе с консервантом, таким как мертиолат, и эмульсия разливается по флаконам [148].

В качестве антигена в составе инактивированных вакцин могут использоваться как высоко-, так и низковирулентные штаммы, но первые представляют собой неоправданный риск из-за манипуляций с большими количествами вирулентного вируса, а также из-за опасностей неполной инактивации и возможного последующего заражения птицы [79].

Ревакцинация с использованием инаktivированных вакцин вызывает эффективный иммунный ответ, опосредованный антителами, который обеспечивает защиту в течение всего периода яйцекладки с увеличением яйценоскости и эффективным переносом материнских антител [125]. Недостатком инаktivированных масляных эмульсионных вакцин является более высокая стоимость их производства, которая, впрочем, может быть компенсирована за счет производства поливалентных вакцин [61].

Большинство инаktivированных вакцин вводится индивидуально каждой птице внутримышечно или подкожно и активнее стимулируют гуморальный иммунитет в сравнении с клеточным и мукозальным [139]. Однако существуют препараты, компоненты которых стимулируют устойчивую гуморальную и клеточно-опосредованную реакцию организма, что приводит к полной иммунологической защите от различных патогенов [187]. Такие вакцины имеют в своем составе липосомы, в которые заключен антиген. В таком виде антигены могут избежать разложения или нейтрализации в тканях, а также высвободиться в течение длительного периода *in vivo* [188].

Сравнительно недавно был разработан новый класс вакцин, где вирус герпеса индеек или вирусы оспы птиц используются в качестве вирусных векторов, которые могут экспрессировать антигены ВНБ от лентогенных вирусов, принадлежащих к генотипам I или II, и индуцировать тем самым иммунный ответ на вирус НБ [176]. По сравнению с традиционными поливалентными вакцинами, векторные вакцины имеют ряд преимуществ, включая одновременную экспрессию нескольких защитных антигенов в одном вирусном переносчике, отсутствие необходимости в концентрации антигена, индукцию гуморального, клеточного иммунитета или иммунитета слизистых оболочек, а также высокую генетическую стабильность и безопасность [139]. В нынешние годы наиболее часто используемым вектором является вирус герпеса Мелеагрида 1 (MeAHV1) или вирус герпеса индейки (HVT), экспрессирующий белок F или HN [116]. Вакцины на основе герпесвируса индеек могут обеспечивать пожизненную защиту

благодаря персистированию НВТ в организме, а также стимулировать как антителообразующий, так и клеточный иммунитет [139].

Вирус ньюкаслской болезни тоже может служить в качестве вакцинного вектора. Общепринятая стратегия создания вакцины заключается в том, чтобы вставить чужеродные гены в качестве независимой единицы транскрипции в геном ВНБ, а транскрипционные сигналы, включая концевую, межгенную и начальную последовательности генов, добавляются перед чужеродными генами [139]. Благодаря достижениям реверсивной генетики была также создана рекомбинантная химерная вакцина против ВНБ, которая позволяет проводить серологическую дифференциацию между вакцинированными и инфицированными птицами [150]. Хотя вакцины, созданные на основе вектора ВНБ, являются многообещающими, влияние материнских антител вызывает серьезную озабоченность касательно их клинического применения, поскольку антитела против НБ, равно как и чужеродные антигены, могут влиять на эффективность векторных вакцин [139].

Помимо вакцин, активно применяемых на рынке, существует ряд лекарственных препаратов, находящихся на стадии разработки. К ним относятся рекомбинантные субъединичные вакцины и вакцины на основе вирусоподобных частиц [139]. Например, виросомальные вакцины имеют сходство с живыми аттенуированными вакцинами, поскольку они индуцируют как гуморальный, так и клеточно-опосредованный иммунитет, но исключают возможность реверсии вируса, поскольку его нуклеокапсид уже был удален в процессе синтеза [141].

Многие инактивированные и живые вакцины против ньюкаслской болезни содержат в своем составе бессимптомные, лентогенные или мезогенные штаммы вируса НБ, относящиеся к генотипам I-III [72]. Тем не менее, в последние годы многие авторы говорят о проблеме несоответствия между вакцинными и полевыми штаммами вируса ньюкаслской болезни [129, 156, 177]. Установлено, что вакцины против вирусов НБ, филогенетически более близких к вирусам, вызывающим эпидемические вспышки, могут обеспечить лучшую защиту с точки зрения снижения выделения и передачи вируса [180], что подчеркивает необходимость

разработки отечественных препаратов на основе актуальных штаммов ВНБ, в частности, штаммов генотипа VII.

Известно, что инактивированные вакцины на основе штамма Ла-Сота демонстрируют значительно более низкие титры антител против гетерологичного вируса, чем против гомологичного антигена [49, 63]. Более того, вакцинированная птица все еще способна к активному вирусовыделению, что может привести к возникновению нетипичной формы ньюкаслской болезни в вакцинированных стадах [139].

В современной ветеринарной практике особое внимание уделяется разработке вакцин против высоковирулентных штаммов ньюкаслской болезни, преимущественно генотипа VII, включая подтипы VII.1.1 и VII.2, которые активно циркулируют в эндемичных регионах [152]. Значительный прогресс достигнут в создании рекомбинантных и гомологичных вакцин, учитывающих специфику превалирующих штаммов.

Существенным достижением стала разработка поливалентных вакцин, таких как серия MEFLUVAC (например, H5+H9+ND7), объединяющих защиту от высокопатогенного и низкопатогенного гриппа птиц, а также от вируса ньюкаслской болезни генотипа VII [80].

Израильской компанией Biovac разработана вакцина NDmologR7, основанная на модифицированном штамме Ла-Сота генотипа II (rND-LS/"F-HN" g7), где гены поверхностных белков F и HN заменены на соответствующие гены генотипа VII [86]. Кроме того, для комбинированной программы вакцинации против ньюкаслской болезни компания предлагает и живой вариант вакцины NDmoLiveR7, доступный для массового введения, как правило методом спрея [85].

Под торговым названием Дальгубан (Dalguban) выпускается линейка вакцин южнокорейской компании KBNP, предназначенных для борьбы с актуальными штаммами вируса ньюкаслской болезни, в частности, доминирующего сейчас генотипа VII. Лиофилизированная живая вакцина Himmvac Dalguban N+ содержит вирус НБ, генетически соответствующий VII генотипу [71], эмульсионная инактивированная вакцина Himmvac Dalguban N Plus Oil

предназначенная для создания длительного и напряженного иммунитета против VII генотипа вируса НБ [5], а ассоциированная инактивированная вакцина Himmvac Dalguban AN Plus Oil применяется для профилактики ньюкаслской болезни (VII генотип) и низкопатогенного гриппа птиц (H9N2) [4]. Основой линейки препаратов является рекомбинантный вакцинный штамм KBNP-C4152R2L вируса НБ [71]. Штамм создан методом обратной генетики на базе классического штамма Ла-Сота (II генотип), но его ключевые антигенные белки (F и HN) заменены на белки вируса НБ VII генотипа (штамм KBNP-4152) [135].

Особого внимания заслуживает разработка химерных препаратов. Вакцина LX-OAI4S, вводимая методом спрея, формирует системный иммунитет и эффективно подавляет выделение вируса, сохраняя высокую эффективность даже при наличии материнских антител [204].

Сравнительный анализ демонстрирует существенные преимущества современных вакцин, основанных на антигене вируса ньюкаслской болезни генотипа VII, перед препаратами, созданными на основе вируса НБ генотипа II (например, штамма Ла-Сота) [152]. Новые разработки не только предотвращают летальные исходы, но и значительно снижают выделение вируса, что критически важно для контроля распространения инфекции [49].

1.9 Производство и контроль качества вакцин

Производство вакцин против ньюкаслской болезни является высокоэффективным, поскольку вакцинные штаммы вируса достигают высоких титров в куриных эмбрионах категории СПФ и в культуре клеток. Это делает вакцинные штаммы вируса НБ привлекательными в качестве вирусных векторов для разработки поливалентных вакцин против других патогенов, которые могут нанести ущерб птицеводческой промышленности [179].

В идеале целью программы вакцинации является выработка пожизненного иммунитета с помощью одной вакцины в как можно более раннем возрасте без побочных эффектов, связанных со смертностью, респираторными заболеваниями или замедлением роста [82]. Кроме того, вакцина должна вводиться массовыми

методами, быть простой в хранении и содержать маркеры, позволяющие отличать инфицированных животных от вакцинированных, что поможет вовремя определить очаг заболевания и принять меры по его контролю [166].

Живые вакцины против НБ могут производиться на восприимчивых культурах клеток, однако чаще всего для производства используются куриные эмбрионы категории СПФ. Штаммы, используемые при создании аттенуированных вакцин, должны иметь индекс интрацеребральной патогенности не выше 0,4, не вызывать у птиц заболевания, а также не обладать способностью к увеличению вирулентности и не иметь аминокислотной последовательности, характерной для высокопатогенных вирусов [66].

Для производства инаktivированных вакцин допустимо использовать товарные эмбрионы вместо СПФ, однако при условии, что они получены от здоровой птицы. Восприимчивые к вакцинному штамму культуры клеток также подходят в качестве субстрата для получения вируса [148].

Контроль качества как живых, так и инаktivированных вакцин включает тесты на стерильность, безопасность и эффективность, основанные на требованиях Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ) и различных фармакопейных документах. Наиболее важным критерием эффективности считается величина 50%-защитной дозы (PD_{50}) [112]. Единица PD_{50} обозначает дозу вакцины, которая защитила бы 50% вакцинированных животных [67]. Вакцина соответствует тесту, если значение PD_{50} составляет не менее 50 на дозу и если нижний доверительный предел составляет не менее 35 PD_{50} на дозу [112].

В последние годы отдельное внимание уделяется такой характеристике вакцин, как термостабильность. Большинство имеющихся на рынке вакцин не способны долго сохранять свою эффективность при комнатных температурах и требовательны к поддержанию холодовой цепи при хранении и транспортировке. Более того, это обстоятельство делает их непригодными для использования в сельских районах развивающихся стран, где вакцину, возможно, придется транспортировать в течение нескольких часов, а в ряде случаев и дней вне холодильных установок [89, 94].

Для решения данного вопроса были разработаны термостабильные вакцины против ньюкаслской болезни, изготовленные на основе модифицированных вакцинных штаммов генотипа I, таких как V4, TS09-C и I-2 [196]. Термостабильные вакцины по-прежнему требуют длительного хранения в холодильнике, однако гораздо дольше хранятся при транспортировке за счет испарительного охлаждения, обеспечиваемого путем оборачивания вакцины во влажную ткань. Однако если хранить их под прямыми солнечными лучами или при высокой температуре (выше 37°C) более нескольких часов, препараты будут непригодны для использования [89].

1.10 Заключение по обзору литературы

Ньюкаслская болезнь представляет серьезную проблему для современного птицеводства и входит в список заболеваний, подлежащих обязательной нотификации. Болезнь вызывается ортоавулавиром птиц (OAVJ), принадлежащим к семейству *Paramyxoviridae*, и хотя все вирусы ньюкаслской болезни являются представителями одного серотипа, между различными генотипами наблюдается антигенное и генетическое разнообразие [83]. Классификация изолятов вируса ньюкаслской болезни осуществляется на основе длины генома и особенностей нуклеотидных последовательностей сайта расщепления белка F, что позволяет разделить представителей OAVJ на 2 класса. Первый класс включает в себя преимущественно лентогенные штаммы, в то время как изоляты второго класса характеризуются значительным разнообразием. Вирусы этой группы особенно опасны для птицеводческой отрасли, поскольку при возникновении эпизоотии способны нанести существенный экономический ущерб [172].

Особые опасения среди генотипов ВНБ II класса в последние годы вызывает VII генотип, возникший еще в 1990-х годах и ныне доминирующий во многих регионах мира [191]. Вирусы данного генотипа имеют тенденцию к активному распространению и могут провоцировать развитие болезни и снижение продуктивности даже среди птиц, прошедших вакцинацию.

С клинической точки зрения ньюкаслская болезнь характеризуется дисфункцией дыхательной, пищеварительной и нервной систем и подразделяется на несколько форм в зависимости от степени тяжести: везикулярную, мезоэнтерную, энтерную и бессимптомную кишечную. При остром течении болезни не исключена внезапная гибель без предшествующей клинической картины. Для ньюкаслской болезни описан ряд характерных патологоанатомических изменений, хотя их выраженность может значительно варьировать в зависимости от вирулентности конкретного изолята и восприимчивости организма.

Эффективное и экономически выгодное лечение ньюкаслской болезни на сегодняшний момент не разработано. В основе предупреждения болезни лежат соблюдение надлежащих мер биобезопасности на птицеводческом предприятии, контроль за экспортом и импортом птиц и продукции птицеводства, а также специфическая профилактика, подразумевающая использование вакцин. Как живые, так и инактивированные вакцины получили широкое распространение и активно применяются на птицефабриках и в личных подсобных хозяйствах по всему миру. Живые вакцины удобны в использовании благодаря тому, что могут вводиться массовыми методами и имеют, как правило, более низкую себестоимость по сравнению с инактивированными, однако напряженности иммунитета после вакцинации живыми вакцинами не всегда достаточно для полной защиты стада от полевых штаммов вируса НБ генотипа VII. Инактивированные вакцины представляют собой эмульсию из инактивированного вируса и адъюванта, вводимую каждой птице индивидуально. В настоящее время все большую популярность обретают векторные и рекомбинантные вакцины. Основными их преимуществами являются высокая генетическая стабильность, безопасность, а также возможность одновременно экспрессировать несколько защитных антигенов в одном вирусном переносчике и индуцировать как клеточный, так и гуморальный иммунитет или иммунитет слизистых оболочек [139].

В связи с широким распространением вирусов ньюкаслской болезни VII генотипа, характерными чертами которых являются высокая вирулентность и

способность поражать даже вакцинированные стада, вопросы антигенного соответствия между вакцинными и полевыми штаммами обрел особую актуальность.

Иностранными организациями разработаны современные препараты для профилактики НБ, вызванной генотипом VII, включая поливалентную вакцину MEFLUVAC H5+H9+ND7 против гриппа птиц и ньюкаслской болезни, а также вакцины израильского производства NDmologR7 и NDmoLiveR7, применяемая для комплексной вакцинации. Южнокорейская компания KBNP создала линейку вакцин Dalguban на основе рекомбинантного штамма KBNP-C4152R2L с антигенными белками вируса НБ генотипа VII, включающую живые и инаktivированные препараты, в том числе ассоциированную вакцину против ньюкаслской болезни и гриппа птиц. Особого внимания заслуживает химерная вакцина LX-OAI4S, эффективная даже при наличии материнских антител.

Большинство имеющихся на рынке вакцин по-прежнему производится на основе традиционных штаммов вируса, таких как Ла-Сота генотипа II, однако последние исследования свидетельствуют о том, что такие вакцины не всегда обеспечивают должной защиты поголовья против штаммов VII генотипа, демонстрируя низкие титры антител в отношении гетерологичного вируса в сравнении с гомологичным антигеном [49, 63]. Более того, вакцинированная птица все еще способна к активному вирусовыделению, что может привести к возникновению нетипичной формы ньюкаслской болезни в иммунизированных стадах [139]. Данные обстоятельства указывают на важность актуализации производственных штаммов вируса НБ при изготовлении инаktivированных вакцин для достижения максимального антигенного соответствия между вакцинным и полевым вирусами.

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, а также для получения рабочих посевных материалов использовали развивающиеся СПФ-эмбрионы кур 9-11-суточной инкубации (VENKY'S LIMITED, Индия, или VALO BioMedia GmbH, Германия). Для получения вирусосодержащей суспензии для вакцины в промышленных масштабах использовали товарные эмбрионы кур 9-11-суточной инкубации, полученные из благополучного по инфекционным заболеваниям хозяйства.

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 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.

Птицу содержали в отдельных клетках (600×400×300). Условия содержания птицы в ЭБЛРЖ (ВК) секторе №2 соответствовали ГОСТ 33215 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» [9] и ГОСТ 34088 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за сельскохозяйственными животными» [10]. В помещениях для содержания птицы

контролировали температуру (22-25°C) и влажность воздуха (40-80%). Освещенность поддерживали автоматически в режиме «свет/темнота» (12/12 ч). Раздачу корма и воды проводили в фиксированное время.

Работа с птицей проводилась в соответствии с СТО 00495527-0002 «Животные лабораторные. Использование для контроля и экспериментов» [40]. Опытные группы формировались в соответствии с «Правилами регулирования обращения ветеринарных лекарственных средств на таможенной территории Евразийского экономического союза» [29], а также согласно рекомендациям ВОЗЖ [112].

Вышедших из экспериментов живых птиц подвергали эвтаназии.

2.2 Методы исследований

Культивирование вируса ньюкаслской болезни. Перед использованием куриные эмбрионы (КЭ) подвергали овоскопии для подтверждения их кондиционности. Вирусный материал разбавляли стерильным физиологическим раствором (рН 7,2-7,6). Величину разбавления определяли таким образом, чтобы в 0,1 см³ вирусной суспензии содержалось от 3,0 до 6,0 lg ЭИД₅₀ вируса.

Скорлупу эмбриона обрабатывали дезинфицирующим раствором. В скорлупе в области пуги на 5-6 мм выше границы воздушной камеры делали отверстие диаметром около 1 мм. Через отверстие в естественной воздушной камере эмбриона в аллантоисную полость с помощью шприца вводили суспензию вируса ньюкаслской болезни в объеме 0,1 см³. После этого отверстие в скорлупе заливали стерильным парафином.

Зараженные КЭ помещали в термостат при температуре (37,5±0,5)°C и относительной влажности 60-70%. Просмотр зараженных КЭ производили с помощью овоскопа ежедневно. Все эмбрионы, погибшие в течение первых 24 ч инкубации, подлежали выбраковке. Для изготовления посевного материала использовали только живые эмбрионы. По окончании инкубации живые КЭ помещали в холодильную камеру (4°C) на 18 ч.

Сбор посевного материала проводили асептически. Скорлупу над воздушной камерой дезинфицировали 70% спиртом с последующим фламбированием. Вскрывали скорлупу, затем стерильным глазным пинцетом снимали подскорлупную оболочку и отбирали стерильной пипеткой аллантоисную жидкость в стерильные пронумерованные флаконы. Из вирусосодержащей жидкости каждого флакона делали посеы на бактериальные среды для проверки на контаминацию микрофлорой, определяли гемагглютинирующий титр и инфекционную активность [92].

Определение инфекционной активности вируса на куриных эмбрионах.

Биологическую активность штамма НБ 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» [18], утвержденными директором ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2016 г.

Из объединенной пробы готовили ряд десятикратных последовательных разведений (от 10^1 до 10^{10}). Каждое разведение вируса инокулировали в аллантоисную полость четырем куриным эмбрионам. Возраст эмбрионов на момент инокуляции составлял 9-11 суток. 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 [17]:

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

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; $l_{gh} = 1; 0,5$ – постоянный коэффициент.

Определения инфекционной активности вируса на цыплятах. Величину 50%-летальной дозы (LD_{50}) определяли на цыплятах, выведенных из СПФ яиц, возраст которых на момент инокуляции составлял 40 суток. Для этого делали разведение общей пробы материала до 10 степени. Подготовленными разведениями заражали по 5 цыплят в бедренную мышцу в объеме $0,5 \text{ см}^3$. В течение последующих 14 суток проводили ежедневный учет больных и павших птиц. Учет результатов проводили по гибели объекта и по наличию выраженных клинических признаков болезни. Логарифмическую величину 50%-летальной дозы вируса ($\lg LD_{50}$) 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) [95] 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 сутки. 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» [19]. Для исследования отбирали ротоглоточные и клоакальные смывы от живой птицы. Работу выполняли на базе «Референтной лаборатории болезней птиц» ФГБУ «ВНИИЗЖ».

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» [21].

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» [20]. Определяли титр гемагглютинирующих единиц (ГАЕ).

Инаktivация вирусов. Вирусные материалы инаktivировали 1-(2-аминоэтил)-азиридином в течение 24-36 ч. Процесс инаktivации вирусного материала осуществлялся в условиях термостата при температуре $37,0 \pm 0,5$ °C. 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 [112, 201].

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. Титр антител к вирусу НБ (Т) определяли в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) в сыворотках крови птиц. Испытание на антигенную специфичность проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по идентификации вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации» [20], утвержденными директором ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2016 г.

Для постановки РТГА с антигеном «Ла-Сота» использовали диагностические наборы производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (Россия). Для постановки РТГА с антигеном «ВНИИЗЖ G7» использовали инаktivированный вирус ньюкаслской болезни генотипа VII штамма «ВНИИЗЖ G7». Образцы предварительно исследовали в реакции гемагглютинации (РГА) для определения гемагглютинирующей активности штамма. Дальнейшее исследование проводили в РТГА, определяя величину титра антител к вирусу ньюкаслской болезни. Согласно инструкции к применению инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» [43, 44], минимальным протективным титром антител к вирусу НБ считали величину не ниже 5,0 log₂ ГАЕ. Работу выполняли на базе лабораторий «Профилактики болезней птиц» и «Эпизоотологии и мониторинга».

Определение протективной активности вакцин. Величину 50%-протективной дозы (PD_{50}) определяли методом регрессионного анализа согласно «Методическим рекомендациям по анализу параметров в системах «доза-эффект» с альтернативным способом оценивания» [17], «Статистической обработке результатов фармакологических исследований» [31] и «Методам корреляционного и регрессионного анализа» [45].

Контрольное заражение птиц. Вакцинированных и интактных птиц инфицировали вирулентным штаммом вируса НБ «NDV-Saratov». Вирусосодержащую суспензию вводили птицам внутримышечно в область бедра в объеме $0,5 \text{ см}^3$ и в инфицирующей дозе не менее $6 \lg \text{ЭИД}_{50}$. Для моделирования инфекционного процесса опытных птиц заражали интраназально, перорально или внутримышечно в инфицирующей дозе не менее $6 \lg \text{ЭИД}_{50}$.

В течение 10 суток инфицированная птица подвергалась ежедневному клиническому наблюдению согласно ГОСТ Р 58090-2018 [12]. В рамках учета фиксировали летальность, а также наличие клинических признаков НБ. 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» [22].

Патологоанатомическое вскрытие проводили в соответствии с ГОСТ Р 57547-2017 «Услуги для непродуктивных животных. Патологоанатомическое исследование трупов непродуктивных животных. Общие требования» [11]. Процедура вскрытия включала в себя наружный осмотр трупа животного и исследование внутренних органов различных систем на предмет наличия в них патологических изменений.

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

3.1 Изучение биологических свойств вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 штамма «ВНИИЗЖ G7»

Начальным этапом работы стало изучение свойств и определение оптимальных условий культивирования производственного штамма вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 «ВНИИЗЖ G7».

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. Штамм «ВНИИЗЖ G7» был депонирован во Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных (ГКШМ) ФГБУ «ВНИИЗЖ», под регистрационным номером: № 436-деп / 22-70 – ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ» и предложен в качестве производственного штамма для изготовления инактивированных вакцин в 2022 году. Штамм поддерживается и хранится в ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ» и в коллекции ФГБУ «ВГНКИ», в соответствии с СТО 00495527-0444.

3.1.1 Определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7»

Целью исследования являлось установление величины инфекционного титра вируса ($\lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$) на СПФ куриных эмбрионах, а также титра гемагглютинирующей активности (ГА), что имеет важное значение для последующего расчета показателей, необходимых при работе с производственными штаммами.

Для проведения испытания из объединенной пробы вирусосодержащей суспензии готовили ряд десятикратных последовательных разведений, каждое разведение вируса инокулировали в аллантоисную полость четырех куриным эмбрионам. Материал объединенной пробы исследовали в реакции

гемагглютинации (РГА). Эмбрионы, погибшие после 24 ч инкубации и более, охлаждались и использовались для сбора экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) и проведения дальнейших исследований.

Специфичность гибели подтверждали постановкой РГА с экстраэмбриональной жидкостью каждого инокулированного эмбриона. Титр вируса в исходном материале определяли по методу Кербера и выражали в единицах ЭИД₅₀/см³.

Результаты исследования приведены в таблице 1.

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

n=3

№ 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

На основании данных таблицы 1 произвели расчет среднего показателя инфекционной активности, равного $9,33 \pm 0,25$ lg ЭИД₅₀/см³, и гемагглютинирующей активности вируса, равной $8,33 \pm 0,31$ log₂ ГАЕ. Данные значения соответствуют требованиям, предъявляемым к вакцинным штаммам вируса ньюкаслской болезни [35, 39], и позволяют сделать вывод о возможности применения штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ в производственных целях. Также допустимо заключить, что куриные эмбрионы являются чувствительной к данному вирусу тест-системой и подходят для проведения дальнейших исследований и получения вирусосодержащего материала.

3.1.2 Определение стабильности фенотипа штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни

Согласно требованиям ВОЗЖ [111], фенотип штамма вируса должен быть стабильным, т.е. сохранять свои основные биотехнологические характеристики

при пассировании на чувствительной тест-системе. Стабильность фенотипа штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни птиц оценивали путем проведения пяти последовательных пассажей исходного штамма в чувствительной системе культивирования – 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 экстраэмбриональной жидкости от эмбрионов и исследовали в РГА, а также определяли инфекционный титр вируса согласно методике.

Результаты исследований представлены в таблице 2.

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

№ пассажа	Гемагглютинирующая активность, $\log_2 \text{ГАЕ}$	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	$7,6 \pm 0,17^*$	$9,50 \pm 0,09$

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

В результате исследований было установлено (таблица 2), что штамм «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни птиц при пассировании оставался стабильным, а разность полученных значений составляла менее 1 логарифма. Средний титр гемагглютинирующей активности вируса имел величину $7,60 \pm 0,17 \log_2 \text{ГАЕ}$, а инфекционной – $9,50 \pm 0,09 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$.

3.1.3 Подбор оптимальной заражающей дозы вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7»

Исследование по подбору оптимальной заражающей дозы производственного вируса ньюкаслской болезни генотипа VII штамма «ВНИИЗЖ G7» проводили на СПФ куриных эмбрионах возрастом 9-11 суток. Согласно Наземному руководству ВОЗЖ [112], рабочий посевной материал разводят таким образом, чтобы в аллантоисную полость эмбрионов было введено примерно 3-6 $\lg$

ЭИД/0,1-0,2 см³. Для исследования были подготовлены разведения исследуемого вируса, содержащие 3, 4, 5 и 6 lg ЭИД₅₀/0,1см³.

Также определяли диапазон гибели эмбрионов 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.

Результаты исследования представлены в таблице 3.

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

На основании полученных данных таблицы 3 заключили, что наиболее высокий титр гемагглютинирующей активности, равный 8,2 ± 0,09 log₂ ГАЕ, наблюдался при заражении дозой 5,0 lg ЭИД₅₀/0,1см³. Суммарный титр инфекционной активности вируса также достигал максимального значения (9,25 lg ЭИД₅₀/см³) в данной точке. Следовательно, доза 5,0 lg ЭИД₅₀/0,1см³ являлась наиболее подходящей для получения вирусосодержащей суспензии в промышленных условиях.

3.1.4 Подбор оптимального времени культивирования штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни

С учетом оптимальной заражающей дозы произвели подбор оптимального времени культивирования штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ в производственных условиях. Для этого использовали товарные эмбрионы, полученные из хозяйства, благополучного по инфекционным болезням.

Для проведения исследования сформировали 6 равных опытных групп, по 60 эмбрионов в каждой. Эмбрионы заражали суспензией вируса ньюкаслской болезни генотипа VII производственного штамма «ВНИИЗЖ G7» в аллантоисную полость в дозе $5,0 \lg \text{ЭИД}_{50}/0,1 \text{ см}^3$. После инокуляции эмбрионы инкубировали различное время: 30, 36, 42, 48, 54 и 60 ч.

По данным главы 3.3.14 Наземного кодекса ВОЗЖ [111] время инкубации эмбрионов при культивировании вируса ньюкаслской болезни зависит от используемого штамма вируса и определяется таким образом, чтобы обеспечить максимальный выход при минимальном количестве погибших эмбрионов. Тем не менее, поскольку производственный штамм вируса ньюкаслской болезни «ВНИИЗЖ G7» является высоковирулентным на основании данных секвенирования сайта расщепления белка F [92], ведущим критерием оценки накопления вируса в куриных эмбрионах считали их гибель позднее 24 часов с момента заражения. Далее овоскопию проводили каждые 6 часов. Живых и погибших эмбрионов в каждой опытной группе маркировали, затем охлаждали. Для дальнейшего исследования 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 реакции гемагглютинации (РГА), посредством которой определяли титр гемагглютинирующей активности (ГА) вируса в материале. Для определения суммарного титра гемагглютинирующей активности готовили объединенную пробу образцов ЭЭЖ, отобранных от всех эмбрионов группы.

Результаты исследования представлены в таблице 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	$4,00 \pm 0,20^*$
2	36	91,7	8,3	$5,25 \pm 0,20$	$4,25 \pm 0,20$
3	42	73,3	26,7	$6,75 \pm 0,20$	$5,00 \pm 0,26$
4	48	31,6	68,4	$7,75 \pm 0,20$	$6,75 \pm 0,20$
5	54	27,4	73,6	$5,75 \pm 0,20$	$2,00 \pm 0,26$
6	60	21,6	78,4	$4,50 \pm 0,22$	0,00

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

Полученные результаты (таблица 4) позволяют выявить зависимость между временем инкубации и гемагглютинирующей активностью экстраэмбриональной жидкости живых и погибших эмбрионов. Данные представлены на рисунке 1.

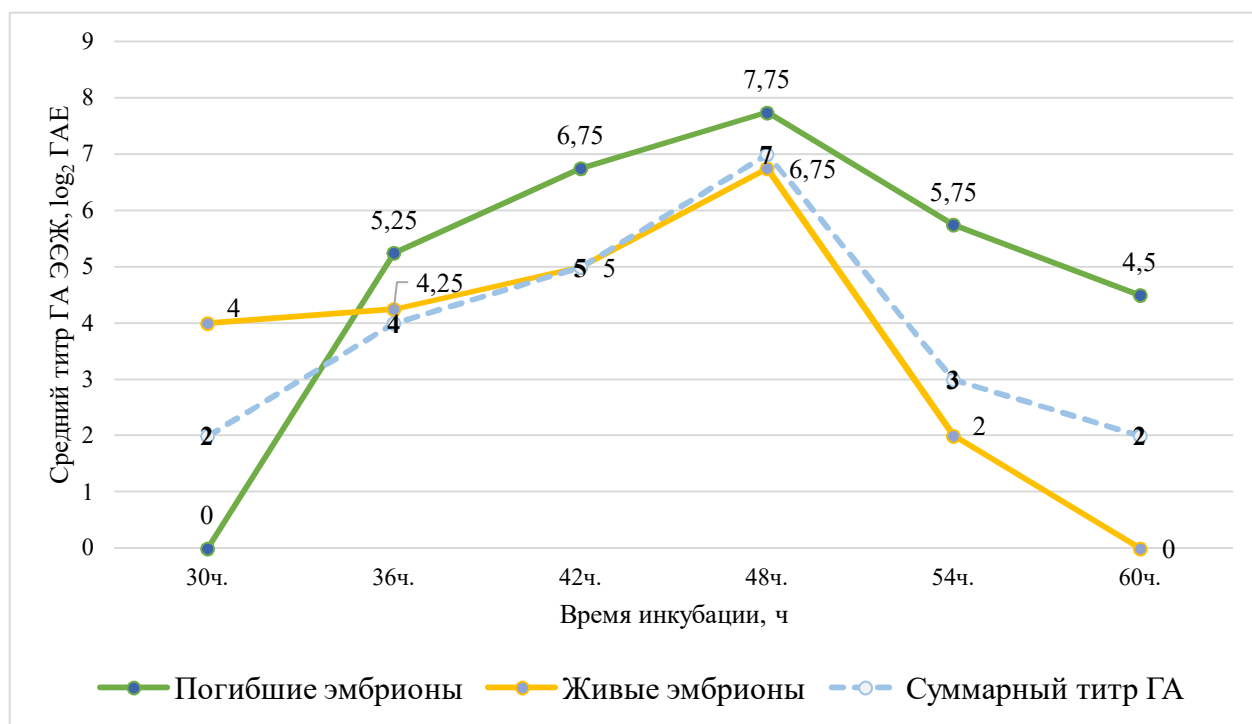


Рисунок 1 – Изменение показателя гемагглютинирующей активности образцов ЭЭЖ эмбрионов в зависимости от времени инкубации при заражении вирусом НБ штаммом «ВНИИЗЖ G7»

График наглядно демонстрирует, что титр гемагглютинирующей активности вируса в погибших эмбрионах превышает титр ГА в живых эмбрионах после 36-ти

часов инкубации и до конца исследования. Кроме того, титр гемагглютинирующей активности экстраэмбриональной жидкости сначала возрастает, достигая максимального значения, равного $7,75 \log_2$ ГАЕ в погибших эмбрионах и $6,75 \log_2$ ГАЕ в живых эмбрионах, а затем начинает снижаться (рис. 1). Титр гемагглютинирующей активности как в живых, так и в погибших эмбрионах, а также суммарный титр ГА достигали своего максимального значения на 48-м часу инкубации. Время, в которое гемагглютинирующая активность достигала своего максимального значения, считали оптимальным для культивирования вируса в производственных масштабах.

Таким образом установили, что оптимальное время культивирования штамма «ВНИИЗЖ G7» составило 48 часов.

Далее в рамках задач диссертационной работы были проведены исследования по подбору режима инактивации штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ, а также по выбору подходящего адьюванта для инаktivированных вакцин, содержащих данный штамм в качестве активного компонента.

3.1.5 Подбор режима инактивации штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни

Для проведения исследований по подбору режима инактивации был использован 15%-й водный раствор 1-(2-аминоэтил)-азиридина. Инфекционная активность вирусосодержащей суспензии (ЭЭЖ) вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» до инактивации составляла $9,0 \lg$ ЭИД₅₀/см³.

Перед началом эксперимента отрегулировали уровень кислотности (pH) раствора 1-(2-аминоэтил)-азиридина до значения 8,3. Далее в среду с вирусной суспензией (ЭЭЖ) вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» вводили раствор 1-(2-аминоэтил)-азиридина в концентрациях 0,05, 0,1 и 0,25%. В процессе обработки при температуре 37° С каждые 4 часа проводили отбор проб образцов ЭЭЖ с целью определения инфекционной активности вируса методом титрования инаktivируемой суспензии на СПФ эмбрионах кур. Данные представлены в таблице 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 ЭИД ₅₀ /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 часа 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.

3.1.6 Подбор адъювантов для инаktivированной вакцины на основе вируса ньюкаслской болезни штамма «ВНИИЗЖ G7»

Целью исследования являлся подбор адъюванта, способствующего формированию напряженного гуморального иммунитета у вакцинированных птиц. Объектом исследования являлась инаktivированная вакцина против НБ на основе масляных адъювантов: «Coralvac RZ 528» и «Montanide ISA 78 VG».

В качестве активного компонента экспериментальных образцов вакцины использовали антиген вируса НБ генотипа VII субгенотипа VII.1.1 штамма «ВНИИЗЖ G7» в составе экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) инфицированных эмбрионов кур. Специфическая гемагглютинирующая активность полученного

антигена вируса составила $7 \log_2$ (1:128) ГАЕ. Далее полученный антиген эмульгировали в соотношении 30:70 в масляном адьюванте.

Исследование проводили на цыплятах яичного кросса из хозяйства, благополучного по острым инфекционным болезням, 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 адьюванта «Coralvac RZ 528», группу №2 – вакциной на основе адьюванта «Montanide ISA 78 VG». Препараты вводили внутримышечно в область груди в объеме 0,5 см³. Дополнительно была образована группа контроля вируса численностью 50 голов, в которой иммунизацию не проводили.

В группах иммунизированных и интактных птиц проводили контрольное заражение через 5, 10, 15, 20 и 25 суток после вакцинации. Для этого брали по 10 голов из каждой опытной группы, а также 10 голов из группы контроля.

В течение последующих десяти суток оценивали клиническое состояние птицы, регистрируя специфические признаки болезни, а также гибель птиц.

Оценками напряженности поствакцинального гуморального иммунитета к вирусу НБ служили установленные в РТГА средние логарифмические титры антител к вирусу НБ (Т). Для постановки реакции параллельно использовали антигены «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота».

Первичные данные приведены в таблице 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, $\log_2(T \pm S)^*$		Клинический показатель ($\sum c$)**	Протективный индекс (Pr)
		«Ла-Сота»	«ВНИИЗЖ G7»		
«Coralvac RZ 528»	5	0,1±0,06	0,4±0,08	10	0,00
	10	0,8±0,07	1,5±0,16	5	0,50
	15	4,9±0,12	6,2±0,10	3	0,70
	20	5,8±0,11	8,3±0,11	2	0,80
	25	6,0±0,12	8,6±0,12	0	0,98
«Montanide ISA 78 VG»	5	0,9±0,09	1,1±0,09	10	0,00
	10	1,5±0,14	3,5±0,15	2	0,80
	15	5,8±0,14	7,8±0,10	0	0,98
	20	6,3±0,14	8,5±0,15	0	0,98
	25	6,6±0,14	8,9±0,11	0	0,98
Контроль	5	0,0	0,0	10	0,00
	10	0,0	0,0	10	0,00
	15	0,0	0,0	10	0,00
	20	0,0	0,0	10	0,00
	25	0,0	0,0	10	0,00

Примечания: * - средний логарифмический титр антител и его стандартная ошибка; ** - число клинически больных и павших птиц в группе за период наблюдения.

Оценки протективного индекса ($Pr = 1 - (\sum c)/n$), рассчитанные по данным таблицы 6 соответственно изученным интервалам, в виде диаграммы представлены на рисунке 2. Для эмпирических оценок $Pr = 1 - (\sum c)/n = 1$ принята условная величина " $Pr_1 = 1 - (1/5n)$; $n = 10$."

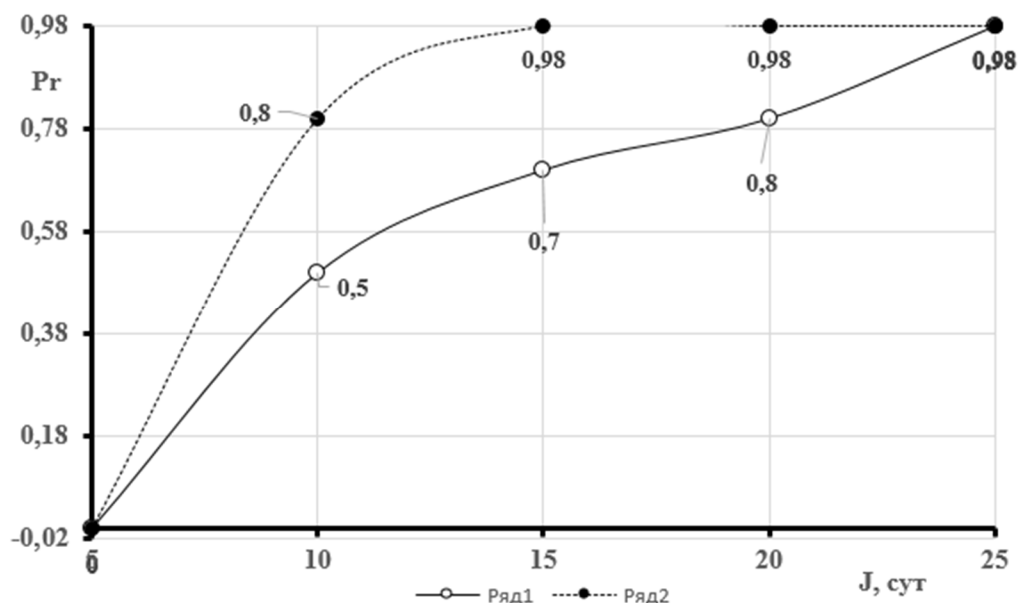


Рисунок 2 – Оценки эффективности (Pr) инактивированных вакцин против НБ на основе адъювантов «Coralvac RZ 528» и «Montanide ISA 78 VG» после контрольного заражения иммунизированных птиц вирулентным вирусом ньюкаслской болезни генотипа VII.1.1

Примечания: ряд 1 – группа птиц, иммунизированных вакциной на основе адъюванта «Coralvac RZ 528»; ряд 2 – группа птиц, иммунизированных вакциной на основе адъюванта «Montanide ISA 78 VG»; J – время после иммунизации.

Полученные результаты позволили описать динамику формирования иммунного ответа у кур, а также его напряженность после вакцинации инактивированными препаратами против НБ на основе адъювантов «Coralvac RZ 528» и «Montanide ISA 78 VG». Через пять сут после прививки у всех вакцинированных птиц из обеих групп отсутствовал протективный иммунитет. В опытных группах количество выявленных клинических признаков болезни и смертность через пять суток после контрольного заражения были неотличимы от контроля. Далее, относительно контроля, указанные показатели снижались вплоть до нуля. В контрольной группе указанные величины оставались постоянными.

После контрольного 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».

Была выявлена прямая зависимость между титром поствакцинальных антител и сроком, прошедшим с момента вакцинации. Так, в обеих

вакцинированных групп птиц концентрация антител достигла минимальной величины протективного титра к вирусу НБ, равного $5 \log_2$ ГАЕ, к 15 суткам после прививки. Тем не менее, при контрольном заражении было выявлено, что препараты вызвали разную защиту вакцинированных цыплят. В группе цыплят, привитых вакциной на основе «Montanide ISA 78 VG», через 15 суток защита после контрольного заражения составила 100%, а в группе «Coralvac RZ 528» всего лишь 70%, хотя средний титр антител в РТГА у цыплят данной группы к гомологичному антигену составлял $6,2 \pm 0,10 \log_2$ ГАЕ.

Через 20 сут после вакцинации 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 адьюванта «Coralvac RZ 528», после контрольного заражения была отмечена 100% сохранность цыплят.

Таким образом, было сделано заключение, что вакцина на основе масляного адьюванта «Montanide ISA 78 VG» обеспечила 100% защиту на 15-е сутки после прививки и далее, в то время как вакцина на основе адьюванта «Coralvac RZ 528» лишь на 25-е сутки.

Кроме того, результаты серологического исследования позволили заключить, что титры поствакцинальных антител к гомологичному антигену «ВНИИЗЖ G7» превышали титры антител к гетерологичному антигену вируса ньюкаслской болезни генотипа II штамма «Ла-Сота». Разность полученных значений в некоторых случаях превышала $2 \log_2$ ГАЕ и являлась статистически значимой ($p \leq 0,05$) для выдвижения гипотезы о наличии антигенного несоответствия между штаммами вируса ньюкаслской болезни II и VII генотипов.

В ходе проведенного исследования заключили, что вакцины на основе адьювантов, формирующих эмульсию типа «вода–масло», подходят для профилактики НБ, вызванной вирусом генотипа VII субгенотипа VII.1.1. Однако, вакцина на основе адьюванта «Montanide ISA 78 VG» показала себя более эффективным препаратом, поскольку ее использование значительно быстрее формировало противовирусный иммунитет к возбудителю, что особенно важно

при создании профилактических зон при борьбе с высоковирулентным вирусом ньюкаслской болезни генотипа VII.

3.2 Изучение биологических свойств вируса ньюкаслской болезни субгенотипа VII.1.1 штамма «NDV-Saratov»

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.

Штамм «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни был зарегистрирован 29.04.2025 г. в ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») (см. приложение 5) и депонирован во Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве. Регистрационный номер штамма 789-деп / 25-6. Местом поддержания и хранения штамма 789-деп / 25-6 определено ФГБУ «ВНИИЗЖ». Штамм получен в виде лиофилизата вирусосодержащей экстраэмбриональной жидкости СПФ-эмбрионов кур.

Перспектива использования штаммов вируса ньюкаслской болезни в диагностических целях строго регламентирована и определяется, в первую очередь, их биологическими характеристиками. В связи с этим целью настоящих исследований являлось изучение биологических свойств вируса ньюкаслской болезни генотипа VII субгенотипа VII.1.1 штамма «NDV-Saratov» для его дальнейшего депонирования.

3.2.1 Генетическая идентификация вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov»

С целью типизации вируса ньюкаслской болезни генотипа VII субгенотипа VII.1.1 штамма «NDV-Saratov» провели его генетическую идентификацию. Исследования основывались на определении первичной структуры гена F исследуемого вируса с последующим анализом филогенетического родства с другими штаммами и изолятами вируса ньюкаслской болезни.

Для пробы получена нуклеотидная последовательность фрагмента гена F длиной 331 н. (нуклеотиды 43-373 ОРС гена F). В результате секвенирования была определена полная нуклеотидная (331 н.о.) последовательность гена F штамма «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни, которая представлена на рисунке 3, а также составлено филогенетическое древо изолятов вируса ньюкаслской болезни (рисунок 4).

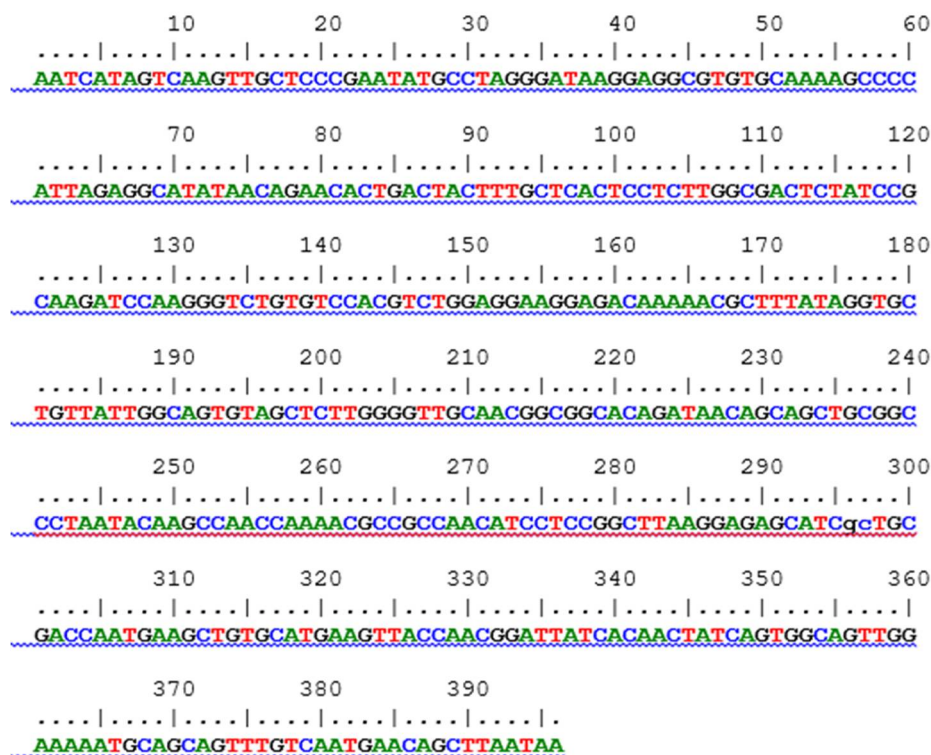


Рисунок 3 – Нуклеотидная последовательность фрагмента гена F штамма «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни

Из представленной на рисунке 3 информации возможно заключить, что последовательность сайта расщепления белка F0 исследованного образца имеет вид 112-RRQKR^F-117 и несет парные основные аминокислоты, что характерно для вирулентных форм ортоавулавируса типа 1 (вируса ньюкаслской болезни).

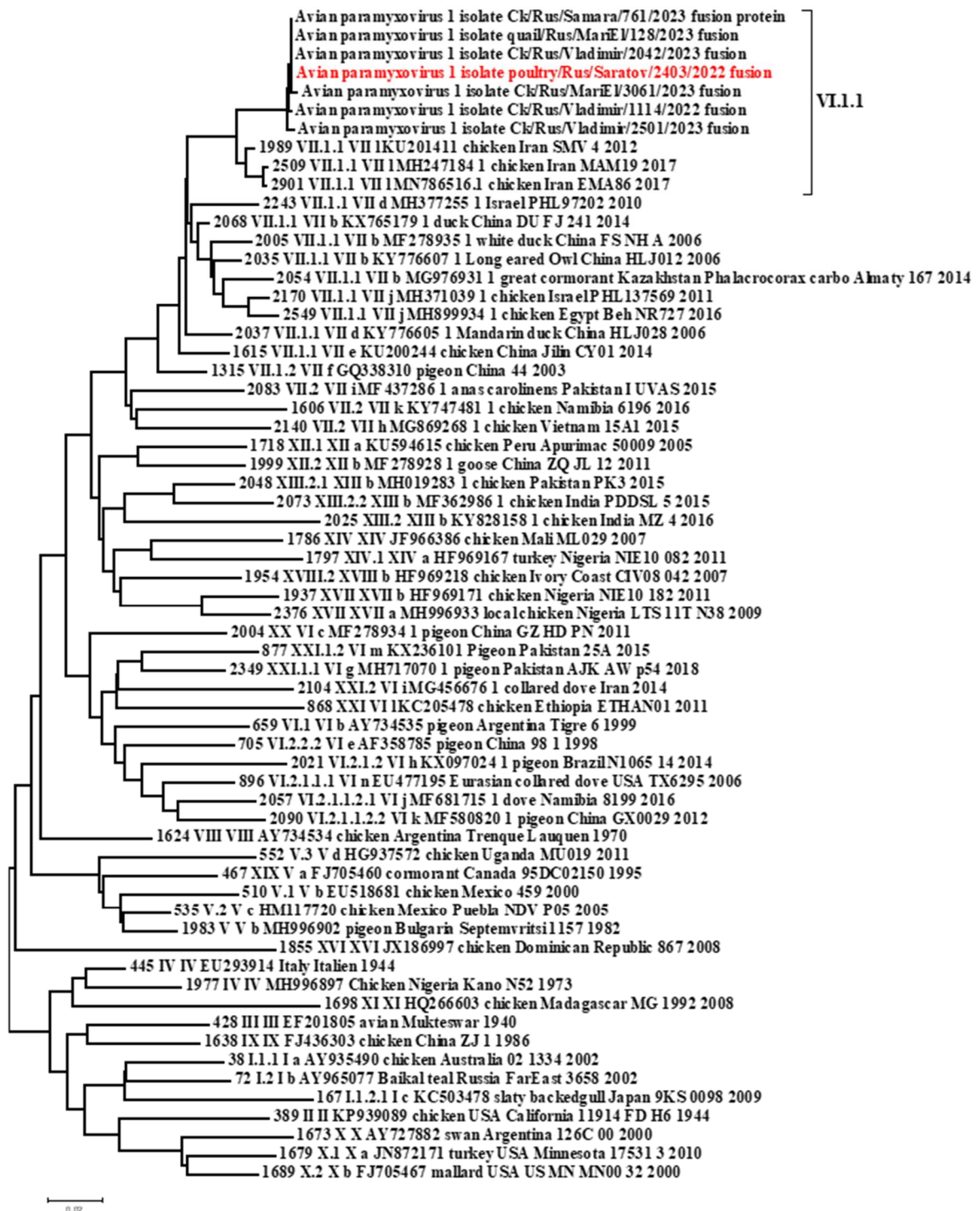


Рисунок 4 – Филогенетическое дерево изолятов вирусов НБ (нуклеотиды 1-1662 ОРС гена F).

На дендрограмме, основанной на сравнении нуклеотидных последовательностей гена F (рисунок 4), показано, что исследуемый штамм «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни принадлежит к субгенотипу VII.1.1 (VII-L). Сравнительный анализ полученных последовательностей с определенными ранее, а также опубликованными последовательностями показал их высокое сходство с последовательностями ряда изолятов субгенотипа VII.1.1 (VII-L), выделенными за последние 15 лет в Иране и с 2019 года регулярно выявляемых в РФ. Наибольшим сходством изученная последовательность обладала с последовательностью изолятов, выявленных во Владимирской, Самарской областях и Республике Башкортостан в 2021-2022 гг.

3.2.2 Определение инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov»

Целью исследования являлось установление величины инфекционного титра вируса на куриных эмбрионах в 50% единицах действия ($\lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$) при титровании на СПФ-КЭ, а также титра гемагглютинирующей активности, что имеет важное значение для последующего расчета ряда показателей, в частности, для подбора оптимальной заражающей дозы для контрольного заражения.

Специфичность гибели подтверждали исследованием ЭЭЖ каждого инокулированного эмбриона в РГА. Титр вируса в исходном материале определяли по методу Кербера и выражали в единицах $\text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$.

Результаты исследование приведены в таблице 7.

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

n=3

№ опыта	Инфекционная активность вируса, lg ЭИД₅₀/см³	Гемагглютинирующая активность вируса, log₂ ГАЕ
1	9,00	6,00
2	9,00	7,00
3	9,25	6,00
Среднее значение (± S)	9,08 ± 0,16	6,33 ± 0,31

Примечания: S - стандартная ошибка

В результате было установлено, что величина инфекционной активности штамма «NDV-Saratov» составляла $9,08 \pm 0,16$ lg ЭИД₅₀/см³, а гемагглютинирующей – $6,33 \pm 0,31$ log₂ ГАЕ (таблица 7). Полученные значения соответствуют нормативным, представленным в СТО 00495527-0326 «Стандарт ФГБУ «ВНИИЗЖ» на штаммы вируса ньюкаслской болезни диагностические. Методы изготовления и контроля посевного материала» [38], т.к. превышают его минимальные значения: 5,0 lg ЭИД₅₀/см³ и 4,0 log₂ ГАЕ/см³, соответственно.

3.2.3 Определение 50%-летальной дозы (LD₅₀) вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov» на цыплятах

Величину 50%-летальной дозы (LD₅₀) определяли на цыплятах, полученных из СПФ яиц, возраст которых на момент инокуляции составлял 40 суток. Делали последовательные разведения общей пробы материала, полученной после объединения суспензий из 3 флаконов штамма «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни, до 10 степени. Подготовленными разведениями заражали по 5 цыплят в бедренную мышцу в объеме 0,5 см³. 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 50%-летальной дозы вируса (lg LD₅₀) в вычисляли по формуле Кербера.

Фактические результаты определения инфекционной активности исходного посевного материала штамма «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни генотипа VII представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Значение 50%-летальной дозы (LD₅₀) штамма «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни

n=3

№ опыта	lg LD₅₀/см³
1	9,30
2	9,30
3	9,10
Среднее значение (± S)	9,23 ± 0,14

Примечания: S - стандартная ошибка

Таким образом заключили, что значение 50%-летальной дозы (LD₅₀) штамма «NDV-Saratov» вируса ньюкаслской болезни генотипа VII составило 9,23 lg LD₅₀/см³ (таблица 8). Это позволило отнести данный вирус к высоковирулентным в соответствии с критериями, изложенными в главе 2.3.14 «Руководства по наземным животным» ВОЗЖ, 2009г. [50], т.к. полученное значение превышает 6,0 lg LD₅₀/см³.

3.2.4 Определение вирулентности вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov» на куриных эмбрионах

Целью данного исследования являлась типизация вируса НБ штамма «NDV-Saratov» по степени вирулентности в соответствии с показателем среднего времени гибели куриных эмбрионов. Вирулентность штамма определяли в соответствии с ГОСТ 25587-83. «Птица сельскохозяйственная. Методы лабораторной диагностики болезни Ньюкасла» [8]. Согласно документу, везогенные штаммы ВНБ убивают куриные эмбрионы через 32 – 60 ч инкубации, мезогенные – через 60 – 90 ч, лентогенные – через 100 ч и более.

Для проведения исследования использовали разведения вируса на физиологическом растворе: 10¹, 10⁷, 10⁸, 10⁹ и 10¹⁰. Указанными разведениями вируса заражали по десять куриных эмбрионов в аллантоисную полость и

инкубировали в течение 144 ч. Овоскопию проводили каждые 6 ч, фиксируя гибель эмбрионов. Индикацию патогенного действия вируса производили по сроку гибели эмбрионов, а специфичность подтверждали в РГА. Определяли минимальную летальную дозу (МЛД) – наибольшее разведение, вызывающее гибель всех зараженных эмбрионов. Результаты исследования приведены в таблице 9.

Таблица 9 – Минимальная летальная доза вируса НБ штамма «NDV-Saratov» для куриных эмбрионов

n=3

Разведение вируса	Количество погибших эмбрионов, %		
	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3
10^1	100	100	100
10^7	100	100	100
10^8	50	60	70
10^9	20	10	10
10^{10}	0	0	10

Исходя из представленных в таблице 9 данных установили, что минимальной летальной дозой штамма «NDV-Saratov» являлось разведение вируса 10^7 . Среднее время гибели находили путем деления суммы часов гибели всех эмбрионов, вызванной минимальной летальной дозой, на число эмбрионов.

Результаты исследования приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Среднее время гибели эмбрионов, зараженных штаммом «NDV-Saratov» вируса НБ генотипа VII

n=3

Опыт 1		Опыт 2		Опыт 3	
Время гибели эмбриона (ч)	Количество погибших эмбрионов, зараженных МЛД (шт.)	Время гибели эмбриона (ч)	Количество погибших эмбрионов, зараженных МЛД (шт.)	Время гибели эмбриона (ч)	Количество погибших эмбрионов, зараженных МЛД (шт.)
24	1	54	5	48	2
54	4	60	5	54	1
60	4	-	-	60	2
84	1	-	-	72	5
СВГ, ч	56,4	57		63	

На основании данных, представленных в таблице 10, произвели расчет суммарного показателя СВГ:

$$\Sigma \text{СВГ} = (56,4 + 57 + 63) / 3 = 58,8 \text{ ч}$$

Таким образом определили, что среднее время гибели эмбрионов составило 58,8 ч.

Полученное значение среднего времени гибели эмбрионов позволило предположить, что штамм «NDV-Saratov» является потенциально велогенным. Тем не менее, показатель СВГ в настоящее время не является основным при типизации вирусов ньюкаслской болезни, поэтому должен быть учтен в совокупности с другими критериями и факторами вирулентности.

3.2.5 Определение индекса интрацеребральной патогенности вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov»

Исследование проводили на суточных цыплятах, полученных из СПФ яиц. Для заражения использовали аллантоисную жидкость с титром в РГА 2^9 (1/512), разведенную стерильным физиологическим раствором в соотношении 1/10 без добавления антибиотиков. Указанным разведением вируса заражали десять цыплят интрацеребрально в объеме $0,05 \text{ см}^3$ (Рисунок 5).



Рисунок 5 – Интрацеребральное заражение суточного цыпленка

Контрольной группе, состоявшей из 10 цыплят, вводили интрацеребрально стерильный физиологический раствор в объеме 0,05 см³. На момент инокуляции возраст птицы составлял одни сутки.

Результаты интрацеребрального заражения приведены в таблице 11.

Таблица 11 – 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

Как следует из данных, представленных в таблице 11, на вторые сутки наблюдений 9 из 10 цыплят заболели а на третьи сутки все 10 птиц опытной группы погибли. Птицы в контрольной группе после инокуляции физиологическим раствором были клинически здоровы на протяжении всего периода исследования.

На основании баллов, присвоенных каждой птице, произвели расчет индекса интрацеребральной патогенности изучаемого вируса:

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

В результате было установлено, что индекс интрацеребральной патогенности штамма «NDV-Saratov» вируса НБ генотипа VII составил 1,6.

Согласно данным ВОЗЖ, вирусы, имеющие индекс выше 0,7, являются велогенными [95]. На основании полученного значения ICPI сделали вывод о том, что штамм «NDV-Saratov» являлся велогенным, так как его ICPI значительно превышал 0,7. Это позволило использовать его в дальнейшей работе в диагностических целях и для контрольного заражения.

3.2.6 Изучение динамики инфекционного процесса у кур при заражении вирусом ньюкаслской болезни генотипа VII штаммом «NDV-Saratov»

Целью исследования являлось изучение инфекционного процесса, а также клинических и патологоанатомических особенностей проявления инфекции,

вызванной вирусом ньюкаслской болезни VII генотипа субгенотипа VII.1.1, при экспериментальном заражении кур разными способами.

Эксперимент был поставлен на цыплятах, полученных из СПФ яиц. На момент инокуляции вирусосодержащим материалом возраст цыплят составлял 30 суток. Отсутствие специфических антител к вирусу ньюкаслской болезни подтверждали путем исследования сывороток крови птиц, полученных до заражения, в РТГА.

Для заражения использовали вирулентный штамм вируса ньюкаслской болезни «NDV-Saratov» в заражающей дозе $6,0 \lg \text{ЭИД}_{50}$ согласно рекомендациям ВОЗЖ [112].

Для моделирования инфекционного процесса использовали три различных способа заражения. Интраназальный метод заключался в закапывании в нос вирусосодержащей суспензии в заражающей дозе в объеме $0,1 \text{ см}^3$. Пероральный метод заключался в выпаивании с водой вирусосодержащей суспензии в заражающей дозе в объеме $1,0 \text{ см}^3$. Внутримышечный метод заключался во внутримышечной инъекции в область бедра вирусосодержащей суспензии в заражающей дозе в объеме $0,5 \text{ см}^3$. Контрольных птиц не заражали.

Подопытных птиц разделили на три равные группы по 8 голов в каждой и заразили указанными методами. Через 48 ч после заражения к опытным группам подсадили по 6 интактных цыплят. В течение последующих 10 суток оценивали клиническое состояние зараженной и контактирующей птицы, осуществляли сбор ротоглоточных и клоакальных смывов в фазу активного проявления болезни, проводили патологоанатомическое вскрытие павших птиц. Специфичность гибели подтверждали в реакции ПЦР.

В ходе эксперимента было установлено, что исследуемый вирус ньюкаслской болезни генотипа VII субгенотипа VII.1.1 был контагиозным для кур во всех опытных группах. Была продемонстрирована способность вируса передаваться от больных птиц здоровым и вызывать 100% гибель как экспериментально зараженных, так и контактирующих птиц. Основные показатели, характеризующие

течение инфекционного процесса в каждой опытной группе, представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Характеристика инфекционного процесса у кур при различных способах заражения вирусом НБ штаммом «NDV-Saratov»

Показатель	Экспериментально зараженная птица			Контактирующая птица	Контроль
	Способ заражения				
	Внутримышечный	Пероральный	Интраназальный		
Инкубационный период, суток	2	2	3	3	-
Срок гибели цыплят после заражения, суток	5	6	7	6	-
Летальность, %	100	100	100	100	-
Присутствие генома вируса в клоакальных мазках	+	+	+	+	-
Присутствие генома вируса в ротоглоточных мазках	+	+	+	+	-

Из представленных в таблице 12 данных следует, что наиболее короткий инкубационный период наблюдался при внутримышечном и пероральном способах заражения (2 суток), а наиболее длинный (3 суток) – при интраназальном заражении, что согласовывалось с данными, представленными Всемирной Организацией Здравоохранения Животных.

Срок гибели цыплят был самым коротким при внутримышечном заражении, средним при пероральном, а самым длинным при интраназальном заражении – 5, 6 и 7 суток соответственно. Цыплята во всех опытных группах как искусственно зараженные, так и контактирующие выделяли вирус с фекалиями и с ротоглоточными истечениями. Динамика инфекционного процесса у контактирующих цыплят в целом соответствовала динамике инфекционного процесса у экспериментально зараженных цыплят.

Экспериментальные способы инокуляции вируса, имитирующие естественный путь заражения, за исключением парентерального

(внутримышечный) вызывали развитие острого инфекционного процесса, характерного для везикулярных вирусов ньюкаслской болезни.

Помимо данных об инфекционном процессе, в ходе исследования учитывались клинические признаки, зафиксированные в результате мониторинга состояния экспериментально зараженной и контактирующей птицы. Клинические признаки ньюкаслской болезни у кур разных опытных групп представлена в таблице 13.

Таблица 13 – Клинические проявления ньюкаслской болезни у кур в зависимости от способа заражения

Клинические признаки	Экспериментально зараженная птица			Контакти- рующая птица
	Способ заражения			
	Внутримышечный	Пероральный	Интраназальный	
Угнетение	+	+	+	+
Отсутствие аппетита	+	+	+	+
Диарея	+	+	+	+
Гипертермия	+	+	+	+
Кашель, чихание	-	+	+	-
Хрипы	-	+	+	-
Истечения из носа	-	-	+	-
Истечения из глаз, конъюнктивит	-	-	-	-
Неврологичес-кие симптомы (шаткость походки, кривошея, тремор головы и конечностей)	+	+	-	+

Как следует из данных таблицы 13, неспецифические признаки болезни, такие как гипертермия, диарея, отсутствие аппетита и угнетение были характерны для птиц во всех опытных группах. При явлении диареи фекалии имели жидкую консистенцию и зеленоватый цвет.

По окончании инкубационного периода птицы, зараженные внутримышечно, демонстрировали более тяжелое и стремительное течение болезни с ранней гибелью, однако клиническая картина не всегда была четко выражена и могла быть ограничена неспецифическими проявлениями. Тем не менее у особей, зараженных

внутримышечно и перорально, отмечались ярко выраженные неврологические симптомы. При этом респираторные признаки заболевания, такие как кашель, чихание и хрипы, были характерны для особей в группах перорального и интраназального заражения, а истечения из носа – только в случае интраназального заражения. Клинические признаки ньюкаслской болезни у контактной птицы всех трех групп были аналогичны клинической картине у птиц, зараженных внутримышечно.

В результате патологоанатомического вскрытия было установлено, что у птиц, павших в первые 24 ч после проявления клинических признаков, отсутствовали явные изменения внутренних органов, характерные для ньюкаслской болезни. Под серозной оболочкой в области грудины отмечались незначительные петехии. Среди изменений внутренних органов брюшной полости присутствовали слабо выраженная гиперемия слизистой оболочки кишечника, без кровоизлияний и/или очагов некроза, а также незначительное увеличение селезенки. Головной мозг отекает, с гиперемизированными сосудами и кровоизлияниями.

У птиц, павших после 24 ч с момента проявления признаков ньюкаслской болезни, был обнаружен ряд изменений, который отличался в зависимости от метода заражения и клинических проявлений. Упитанность туши оценивалась ниже средней, перья взъерошены. Клоака закрыта, перья вокруг нее запачканы фекальными массами зеленоватого цвета. В интерстициальной ткани в области головы и шеи, особенно в области грудной части, были отмечены серозные отеки. Гребень и сережки бледные, иногда с цианозом. У павших птиц, зараженных интраназально, были отмечены скопления экссудата на поверхности клюва и вокруг носовых отверстий. Слизистая оболочка глотки и пищевода покрасневшая, с множественными кровоизлияниями. Глотка и ротовая полость заполнены слизистым экссудатом (рисунок 6). Наличие кровоизлияний на задней стенке глотки и трахеи (рисунок 7) было отмечено у птиц, зараженных перорально и интраназально.



Рисунок 6 – Скопление слизистого экссудата в ротовой полости и ротоглотке



Рисунок 7 – Кровоизлияния на задней стенке глотки и слизистой оболочке трахеи

Легкие гиперемированы и отечны, слизистая оболочка кишечника гиперемирована на всем протяжении, с кровоизлияниями и очагами некроза, лимфатические узлы увеличены. Головной мозг отечен, с гиперемированными сосудами и кровоизлияниями.

У птиц, павших спустя 72-96 ч после начала болезни, были зафиксированы явные патологические изменения при наружном и внутреннем осмотрах. Трупы были истощены, перья взъерошены и загрязнены жидкими фекальными массами зеленого цвета. Кожа головы, гребень и борода с выраженным цианозом, без кровоизлияний. На слизистой оболочке преджелудка присутствовали петехии и небольшие экхимозы. Кутикула желудка рыхлая, легко отслаивалась. У некоторых особей слизистая оболочка на границе преджелудка и желудка была гиперемирована и пронизана кровоизлияниями в виде пояса (рисунок 8). Селезенка темного цвета, с очагами некроза. Кишечник катарально воспален, с кровоизлияниями и очагами некроза, в том числе в области слепокишечных миндалин и лимфатической ткани. Головной мозг отечен, с гиперемированными сосудами и кровоизлияниями (рисунок 9).



Рисунок 8 – Кровоизлияния в виде пояска на границе железистого и мышечного желудков



Рисунок 9 – Отечный головной мозг с кровоизлияниями

В ходе исследования была экспериментально подтверждена контагиозность штамма вируса НБ генотипа VII субгенотипа VII.1.1 «NDV-Saratov» для кур при внутримышечном, пероральном и интраназальном способах заражения, а также доказана его способность выделяться во внешнюю среду органами респираторной и пищеварительной систем. Было установлено, что заражающая доза, равная 6,0 lgЭИД₅₀, являлась абсолютной летальной дозой для цыплят СПФ стада в возрасте 30 суток, поскольку вызывала в экспериментальных условиях 100% гибель птиц.

У птицы, зараженной естественным путем, а также у контактирующей птицы специфические клинические признаки ньюкаслской болезни проявлялись наиболее явно, зависели от способа заражения и отличались по исследуемым группам: с преобладанием неврологических симптомов после внутримышечного заражения и у птиц-реципиентов, с преобладанием респираторных признаков при заражении интраназально. Птицы, зараженные перорально, демонстрировали и неврологические, и респираторные симптомы болезни.

В результате вскрытия павших птиц было установлено, что патологоанатомическая картина ньюкаслской болезни характеризовалась разнообразием патологических изменений, которые в большей степени определялись сроком гибели птицы с момента проявления болезни, чем способом заражения.

3.3 Изучение иммунобиологических свойств инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигена вируса НБ субгенотипа

VII.1.1

На основе производственного штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ генотипа VII субгенотипа VII.1.1 были разработаны инаktivированные вакцины против ньюкаслской болезни с торговыми наименованиями «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти», а изучение свойств штамма «NDV-Saratov» позволило депонировать и использовать его в качестве референтного для проведения опытов с контрольным заражением.

Целью представленных исследований являлась оценка иммунобиологических свойств инаktivированных вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни.

3.3.1 Оценка антигенной активности вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ

Проверку антигенной активности исследуемых вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» производили на цыплятах яичного кросса возрастом 30 суток, серонегативных к вирусу НБ. Для каждой из изучаемых вакцин формировали опытную и контрольную группы цыплят по 10 голов в каждой. 10-ти цыплятам опытной группы вводили среднюю пробу вакцин из 3-х флаконов в объеме 0,5 см³ однократно в грудную мышцу. При этом 10 цыплят контрольной группы не вакцинировали. У всех птиц получали сыворотки крови для выявления специфических антител. Забор крови осуществляли до вакцинации и через 28 суток после введения вакцины. Индивидуальные пробы сывороток от вакцинированных и контрольных цыплят, полученные до и после вакцинации, исследовали в РТГА.

Специфическая гемагглютинирующая активность антигенов вируса ньюкаслской болезни птиц составила: 7 log₂ (1:128) ГАЕ для «ВНИИЗЖ G7»; 10 log₂ (1:1024) ГАЕ для «Ла-Сота».

Оценку показателей гемагглютинирующей и антигенной активности проводили в соответствии с СТО 00495527-0483 [36] и СТО 00495527-0468 [37]. Согласно утвержденным стандартам ФГБУ «ВНИИЗЖ», инаktivированную вакцину против ньюкаслской болезни считают антигенно-активной, если через 28 суток после иммунизации не менее чем у 80% привитых цыплят титр антител в РТГА составляет: к вирусу НБ «ВНИИЗЖ G7» не ниже $5,0 \log_2$ ГАЕ; к вирусу НБ «Ла-Сота» не ниже $5,0 \log_2$ ГАЕ.

При наличии у цыплят до вакцинации антител к вирусу НБ через 28 суток после прививки должен быть 2-х кратный и более прирост антител. Прирост титров антител у цыплят контрольной группы должен отсутствовать.

Результаты исследования представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Антигенная активность инаktivированных вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» к ВНБ генотипа II и VII

Вакцина	Титры антител (log ₂ ГАЕ) соответственно штаммам вируса НБ и времени после вакцинации (сут)			
	0		28	
	«Ла-Сота»	«ВНИИЗЖ G7»	«Ла-Сота»	«ВНИИЗЖ G7»
«ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти»	не обнаружено	не обнаружено	9,3±0,08*	9,7±0,15
«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти»			7,5±0,14	8,4±0,12
Контроль	не обнаружено			

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

Из представленных в таблице 14 данных можно заключить, что титр антител через 28 суток после иммунизации вакциной «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» составил $9,3 \log_2$ ГАЕ к вирусу ньюкаслской болезни птиц штамма «Ла-Сота», и $9,7 \log_2$ ГАЕ к вирусу ньюкаслской болезни птиц штамма «ВНИИЗЖ G7». Титр антител после иммунизации вакциной «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» составил

7,5 $\log_2$ ГАЕ к вирусу ньюкаслской болезни птиц штамма «Ла-Сота» и 8,4 $\log_2$ ГАЕ к вирусу ньюкаслской болезни птиц штамма «ВНИИЗЖ G7».

Указанные величины превышали минимальные значения титров антител к вирусу ньюкаслской болезни, требуемых согласно СТО 00495527-0483 и СТО 00495527-0468. Полученные результаты позволили считать, что биопрепараты антигенно активны и способны стимулировать у вакцинируемых птиц гуморальный иммунитет к возбудителю болезни.

3.3.2 Оценка безвредности вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ

Безопасность вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни оценивали на цыплятах яичного кросса в возрасте 30 суток. Специфическая гемагглютинирующая активность антигенов вируса ньюкаслской болезни птиц составила: 7 $\log_2$ (1:128) ГАЕ для «ВНИИЗЖ G7»; 10 $\log_2$ (1:1024) ГАЕ для «Ла-Сота».

Для проведения исследования были сформированы опытные группы в количестве 10 голов в каждой, а также контрольная группа из 10 голов. Птицам опытных групп вводили внутримышечно образцы инактивированных 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 состоянии (угнетение, отказ от корма, диарея) и исключали реактогенное действие препарата (наличия припухлостей в местах введения вакцины).

По истечении срока наблюдений проводили диагностический убой птиц и патологоанатомический осмотр мест инъекции препарата и окружающих тканей на наличие в них изменений (гиперемия, отеки, некрозы, экссудация, инкапсуляции, присутствие измененной или неизмененной эмульсии). Вакцину считали

ареактогенной и безвредной, если указанные прижизненные или посмертные явления отсутствовали. Оценку реактогенного воздействия вакцины на ткани проводили по следующим критериям:

- легкие поражения: побледнение тканей, окружающих место инъекции, на площади до 1 см в диаметре, отсутствие признаков воспаления;
- средние поражения: зона воспалительной реакции тканей, проявляющаяся их отеком, побледнением или гиперемией имеет размеры от 1 до 2 см в диаметре, присутствие диффузно расположенной вакцины;
- сильные поражения: очаг воспаления тканей с вовлечением глубоких и поверхностных мышц и образованием гранулем составляло в диаметре от 3 до 4 см, вакцина вытекала на разрезе или присутствовала в тканях в виде белого творожистого вещества.

Данные, полученные в ходе клинических наблюдений за птицами, привитыми исследуемыми инактивированными вакцинами, представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Клиническое состояние птиц, привитых инактивированными вакцинами

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

Клинические наблюдения показали отсутствие каких-либо изменений в поведении и клиническом состоянии у птиц, привитых двукратным объемом инактивированных вакцин. В течение указанного периода птицы были активными, без признаков угнетения, снижения аппетита или расстройств желудочно-кишечного тракта. На этом основании оценивали состояние птиц как нормальное (таблица 15).

Результаты патологоанатомического осмотра птиц, проведенного после вынужденного убоя, представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Патологоанатомические изменения тканей у птиц, привитых инактивированными вакцинами

№ группы	Группа птиц	Степень поражения тканей, % от группы			
		Нет поражений	Легкая	Средняя	Тяжелая
1	«ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» («Coralvac RZ 528»)	100	0	0	0
2	«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» («Coralvac RZ 528»)	100	0	0	0
3	«ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» («Montanide ISA 78 VG»)	100	0	0	0
4	«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» («Montanide ISA 78 VG»)	100	0	0	0
5	контроль	100	0	0	0

Из указанных в таблице 16 значений можно сделать вывод о том, что испытуемые вакцины не обуславливали патологические изменения тканей в области инъекции.

По результатам проведенного исследования пришли к выводу, 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.

3.3.3 Определение оптимального объема прививной дозы вакцин

Установление оптимального объема прививной дозы вакцины необходимо для рационального использования препарата. Объем прививной дозы исследуемых вакцин «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» определяли на птице яичного кросса общим количеством 80 голов.

Специфическая гемагглютинирующая активность антигенов вируса ньюкаслской болезни птиц составила: $7 \log_2 (1:128)$ ГАЕ для «ВНИИЗЖ G7»; $10 \log_2 (1:1024)$ ГАЕ для «Ла-Сота».

Птицу в возрасте 30 суток групп №1, №2 и №3 по 10 голов каждая иммунизировали вакциной «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» в прививных объемах $0,25 \text{ см}^3$, $0,5 \text{ см}^3$ и $1,0 \text{ см}^3$. Группа №4 из 10 голов в течение всего эксперимента была интактной (контроль). Птицу в возрасте 30 суток групп №5, №6 и №7 по 10 голов каждая иммунизировали вакциной «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» в прививных объемах $0,25 \text{ см}^3$, $0,5 \text{ см}^3$ и $1,0 \text{ см}^3$. Группа №8 из 10 голов в течение всего эксперимента была интактной (контроль).

До вакцинации и далее через 28 суток от птиц отбирали пробы сывороток крови для исследований в РТГА. Вакцину «АвиНью Мульти» считали антигенно-активной, если после вакцинации у привитых птиц титр антител к вирусу НБ обоих штаммов составлял в РТГА не ниже $5 \log_2$ ГАЕ. Вакцину «АвиНьюФлу Мульти» считали антигенно-активной, если после вакцинации у привитых птиц титр антител составлял в РТГА: к вирусу ГП не ниже $4 \log_2$ ГАЕ и к вирусу НБ не ниже $5 \log_2$ ГАЕ. При наличии у цыплят до вакцинации антител к вирусу НБ через 28 суток после прививки должен быть 2-х кратный и более прирост антител. Прирост титров антител у цыплят контрольной группы должен отсутствовать.

Определяли среднегрупповые значения титров антител к соответствующим антигенам вирусов на 28 сутки после вакцинации. Полученные значения сравнивали с соответствующими величинами, установленными до вакцинации.

Полученные результаты представлены в таблицах 17, 18.

Таблица 17 – Антигенная активность компонентов вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» в различных прививных объемах

Номер группы (n=10)	Прививной объем, см ³	Титры антител (log ₂ ГАЕ) соответственно времени после вакцинации (сут)	
		до вакцинации	28
«Ла-Сота»			
1	0,25	6,0±0,11	7,0±0,11*
2	0,5		9,2±0,09
3	1,0		9,5±0,11
4	Контроль		3,2±0,11
«ВНИИЗЖ G7»			
1	0,25	5,2±0,12	7,3±0,13
2	0,5		9,4±0,12
3	1,0		9,7±0,10
4	Контроль		<2

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

Таблица 18 – Антигенная активность компонентов вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» в различных прививных объемах

Номер группы (n=10)	Прививной объем, см ³	Титры антител (log ₂ ГАЕ) соответственно времени после вакцинации (сут)	
		до вакцинации	28
«Ла-Сота»			
5	0,25	4,6±0,13	5,2±0,12
6	0,5		7,3±0,10
7	1,0		7,5±0,11
8	Контроль		<2
«ВНИИЗЖ G7»			
5	0,25	4,1±0,11	5,8±0,12
6	0,5		8,3±0,12
7	1,0		8,6±0,11
8	Контроль		<2
ГП H9N2			
5	0,25	не обнаружено	4,3±0,11
6	0,5		7,5±0,13
7	1,0		7,7±0,13
8	Контроль		не обнаружено

Примечания: * - среднее значение и его стандартная ошибка

Результаты серомониторинга птиц, привитых различными прививными объемами, показали, что препараты «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» в дозе 0,25 см³ индуцировали выраженный гуморальный ответ у привитых птиц на все компоненты вакцин на 28 сутки после вакцинации (таблицы 17, 18).

Увеличение прививного объема обеих вакцин до 0,5 см³ привело к более интенсивному антителообразованию у птиц, что выразилось существенным приростом в титрах ($p \leq 0,05$) ко всем антигенам. После применения вакцин в объеме 1,0 см³ также наблюдали активную индукцию антител иммунной системой птицы. Однако следует отметить, что при сравнении в средних величин титров в группах, привитых 0,5 см³ и 1,0 см³ вакцин, достоверных различий не установлено ($p = 0,05$).

Таким образом установили, что объем 0,25 является недостаточным для обеспечения протективного иммунитета против возбудителя ньюкаслской болезни, вызванной генотипом VII. Из испытанных объемов 1,0 и 0,5 следует выбрать последний, поскольку иммунная реакция птиц равнозначная, а прививной объем вакцины 0,5 см³ является более целесообразным для производства.

3.3.4 Определение 50%-протективной дозы (PD₅₀) вакцин на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса ньюкаслской болезни

Объектом исследования являлись 4 инаktivированные вакцины против ньюкаслской болезни птиц:

1. Моновалентная вакцина на основе штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ (далее в тексте «НБ-G7»);
2. Моновалентная вакцина на основе штамма «Ла-Сота» вируса НБ (далее в тексте «НБ-Ла-Сота»);
3. Вакцина «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» на основе штаммов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ;
4. Вакцина ассоциированная «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» на основе штаммов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ, а также антигенов низкопатогенного гриппа птиц H9N2 (штаммы «A/chicken/Amursky/03/12/H9N2» и «Челябинск-20»).

Специфическая гемагглютинирующая активность, полученных антигенов вируса ньюкаслской болезни птиц составила: $7 \log_2$ (1:128) ГАЕ для «ВНИИЗЖ G7»; $10 \log_2$ (1:1024) ГАЕ для «Ла-Сота». Специфическая инфекционная

активность вирусов до инаktivации составила: $9,0 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ для штамма «ВНИИЗЖ G7»; $10,5 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$ для штамма «Ла-Сота».

Для производства экспериментальных образцов вакцин антигены разбавляли физиологическим раствором в соотношениях 1:25, 1:50, 1:100 или использовали неразведенными. Далее полученные препараты антигенов эмульгировали в соотношении 30:70 в масляном адъюванте «Coralvac RZ 528».

Исследование проводили на цыплятах яичного кросса из хозяйства, благополучного по острым инфекционным болезням, в возрасте 28 сут, серонегативных к вирусу НБ. Каждый образец вакцины испытывали на отдельной группе птиц, численностью 10 голов (n). Вакцину вводили внутримышечно в объеме $0,5 \text{ см}^3$ в область груди. В контрольной группе птиц не иммунизировали.

В реакции торможения гемагглютинации (РТГА) в сыворотках крови птиц, полученных через 28 суток после вакцинации (п/в), определяли титр антител к вирусу НБ.

Вакцинированных и контрольных птиц заражали через 28 суток после вакцинации согласно рекомендациям ВОЗЖ [112]. В течение последующих 10 суток контролировали клиническое состояние зараженной птицы и фиксировали гибель. По окончании срока наблюдений в группах определяли суммарное число клинически больных и павших птиц, зафиксированное за период опыта ($\sum c$), на основании которого вычисляли протективные индексы: $Pr = 1 - (\sum c)/n$, где n – количество птиц в группе до заражения.

Для приближения зависимости между величинами D и Pr к линейному виду значения разведений антигена (D) логарифмировали ($\lg D$), при этом оценки Pr преобразовывали в линейные эквиваленты. В качестве линейных эквивалентов использовали логит-преобразования по Берксону [6]:

$Y = \log (P/(1 - P))$. Обратное преобразование логит-эквивалентов выполняли по формуле: $P = 1 - 1/(1 + (\text{antilg } Y))$. Для эмпирических значений $P = 1$ использовали условные оценки $P_1 = 1 - (1/5n)$ [42].

Оценками напряженности поствакцинального гуморального иммунитета служили установленные в РТГА средние логарифмические титры антител к вирусу

НБ (Т). Для постановки реакции параллельно использовали антигены «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота».

В ходе проведенного эксперимента было установлено, что исследуемые вакцины против ньюкаслской болезни птиц обладали различными протективными свойствами в отношении вирулентного штамма вируса НБ генотипа VII. В таблице 19 представлены первичные данные по изучению протективной активности вакцин против НБ.

Таблица 19 – Протективное действие вакцин против ньюкаслской болезни птиц, содержащих различные разведения антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» вируса НБ, после контрольного заражения штаммом «NDV-Saratov»

Вакцина	D* (lgD)	$\sum c^{**}$	$Pr = 1 - (\sum c)/n$	$Y = \log (Pr/(1-Pr))$
«НБ-G7»	(0) 1	0	0,98 [#]	1,690
	25 (1,4)	1	0,90	0,954
	50 (1,7)	2	0,80	0,602
	100 (2,0)	6	0,40	-0,176
«ВНИИЗЖ-АвиНьюМульти»	(0) 1	0	0,98	1,690
	25 (1,4)	1	0,90	0,954
	50 (1,7)	3	0,70	0,368
	100 (2,0)	5	0,50	0,000
«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлуМульти»	1 (0)	0	0,98	1,690
	25 (1,4)	1	0,90	0,954
	50 (1,7)	3	0,70	0,368
	100 (2,0)	6	0,40	-0,176
«НБ-Ла-Сота»	1 (0)	1	0,90	0,954
	25 (1,4)	3	0,70	0,368
	50 (1,7)	4	0,60	0,176
	100 (2,0)	6	0,40	-0,176
контроль	-	10	-	-

Примечания:

* - указана величина разведения антигена в прививном объеме вакцины (D=1 соответствует неразведенному антигену);

** - число клинически больных и павших птиц, зафиксированное в группе в период опыта (n=10);

- для эмпирических оценок $Pr = 1 - (\sum c)/n = 1$ принята условная величина "Pr1 = 1-(1/5n).

Из данных таблицы 19 следует, что вакцины с различным разведением антигена вызывали разную степень защиты вакцинированных цыплят (от 0,98 до 0,40) от заражения вирулентным вирусом НБ генотипа VII. Так наивысшую защиту вызывали вакцины с цельным антигеном (от 0,90 до 0,98), а наименьшую – с

разведением антигена 1:100 (от 0,40 до 0,50 для разных вакцин). Таким образом установлено наличие связи между концентрацией антигена в вакцине и ее протективными свойствами в отношении высоковирулентного штамма вируса НБ.

Из представленных данных также следует, что вакцины «НБ-G7» и «ВНИИЗЖ–АвиНью Мульти» обладали самой высокой защитой против заражения, а наименьшей степенью защиты обладала вакцина «НБ-Ла-Сота». Подобные различия могут объясняться недостаточным уровнем антигенного соответствия между вакцинным штаммом «Ла-Сота» генотипа II, выделенным в 70-е годы прошлого столетия, и вирулентными штаммами ВНБ генотипа VII, которые активно циркулируют в настоящее время во многих странах мира, включая Российскую Федерацию.

Соответственно тестируемым препаратам исследовали зависимость значений эквивалентов Y от величин испытанных разведений антигенов (D). Использовали регрессионный анализ. Выполняли построение регрессионных моделей, объективно характеризующих связь исследуемых параметров с учетом общей статистики всех первичных данных, и определяли показатели PD_{50} , отражающие протективные потенциалы тестируемых вакцин.

Результаты регрессионного анализа в графическом виде представлены на рисунке 10.

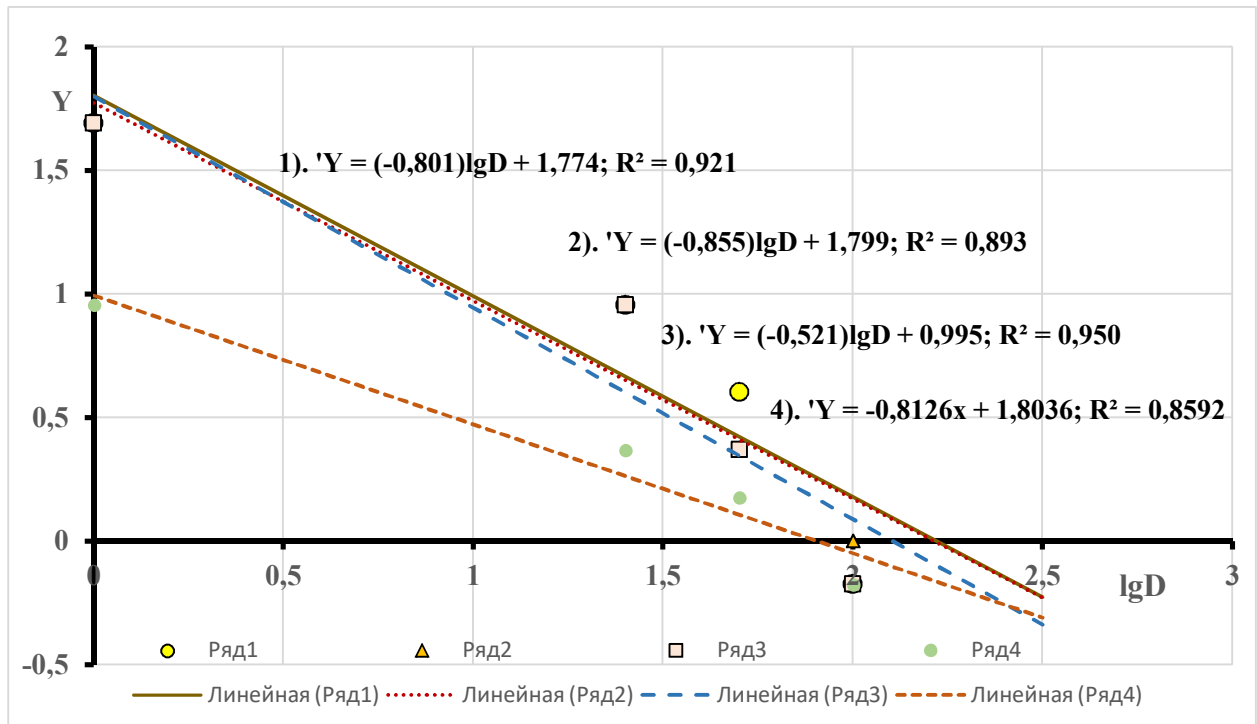


Рисунок 10 – Зависимость между испытанными разведениями антигенов (lgD), входящими в состав вакцин, и эквивалентами индекса защиты (Y) иммунизированных птиц, после контрольного заражения штаммом «NDV-Saratov»

Примечания: показано положение экспериментальных оценок Y по оси lgD. Ось Y пересечена в точке Y = 0, соответствующей эффекту 50% защиты. Приведены регрессионные уравнения (модели), где: 'Y – ожидаемая величина эквивалента индекса защиты для заданного значения lgD: 1) «НБ-G7» (ряд 1); 2) «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» (ряд 2); 3) «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» (ряд 3); 4) «НБ-Ла-Сота» (ряд 4). Даны коэффициенты адекватности моделей (R^2), характеризующие степень соответствия их экспериментальным точкам.

Приведенные на рисунке 10 уравнения (регрессионные модели) имели высокий уровень адекватности ($R^2 > 0,8$), что позволяло использовать их для дальнейших вычислительных операций.

Построенные регрессионные модели были использованы для вычисления величины 50%-ной протективной дозы (PD_{50}) в прививном объеме тестируемых препаратов. Расчет искомых величин выполняли по формуле: $lgPD_{50} = b/(-k)$, где: b – свободный член регрессионного уравнения (ордината линии регрессии); k – регрессионный коэффициент.

Статистическую неопределенность показателя $lgPD_{50}$ [31] в виде стандартной ошибки измерения ($\pm S$) вычисляли, используя формулу: $S = (lgPD_{84} - lgPD_{16})/(2\sqrt{n})$, где: $lgPD_{84} = (b - 0,72)/(-k)$; $lgPD_{16} = (b + 0,72)/(-k)$.

Полученные результаты представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Показатели $\lg PD_{50}$, установленные после контрольного заражения штаммом «NDV-Saratov» соответственно испытанным вакцинам

Вакцина	$\lg PD_{50} \pm S$	PD_{50} в прививном объеме вакцины ($PD_{50}/0,5\text{см}^3$)
«НБ-G7»	$1,8036/0,8126 = 2,220 \pm 0,36$	166
«ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти»	$1,7738/0,8006 = 2,215 \pm 0,25$	164
«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти»	$1,7991/0,855 = 2,104 \pm 0,32$	127
«НБ-Ла-Сота»	$0,9951/0,5212 = 1,909 \pm 0,13$	81

Примечания: S – стандартная ошибка

Данные таблицы 20 демонстрируют, что в эксперименте, проведенном против высоковирулентного штамма «NDV-Saratov», 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 $PD_{50}/0,5\text{см}^3$.

Помимо клинических показателей, оценивали титр поствакцинальных антител к вирусу ньюкаслской болезни генотипов II и VII на 28 сутки после вакцинации. В таблице 21 представлены результаты исследования гемагглютинирующей активности сывороток цыплят.

Таблица 21 – Гемагглютинирующая активность сывороток крови цыплят через 28 суток после иммунизации инактивированными 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		Разность значений титров в гетеро- и гомологичных реакциях
	D (lgD)	GVII (hom)	Ла-Сота (het)	$\log_2(r_1) = \log_2 T_{het} - \log_2 T_{hom}$
«НБ-G7»	(0) 1	$9,70 \pm 0,09^*$	$9,10 \pm 0,09$	-0,6
	25 (1,4)	$8,40 \pm 0,08$	$7,70 \pm 0,10$	-0,7
	50 (1,7)	$7,00 \pm 0,11$	$6,10 \pm 0,10$	-0,9
	100 (2,0)	$6,20 \pm 0,11$	$5,50 \pm 0,10$	-0,7
«ВНИИЗЖ-АвиНьюМульти»	(0) 1	$10,00 \pm 0,12$	$9,30 \pm 0,11$	-0,7
	25 (1,4)	$9,20 \pm 0,12$	$6,80 \pm 0,12$	-2,4
	50 (1,7)	$7,90 \pm 0,12$	$2,80 \pm 0,14$	-5,1
	100 (2,0)	$5,30 \pm 0,12$	$2,50 \pm 0,10$	-2,8
«ВНИИЗЖ-АвиНьюФлуМульти»	1 (0)	$8,10 \pm 0,10$	$6,40 \pm 0,11$	-1,7
	25 (1,4)	$5,40 \pm 0,10$	$3,90 \pm 0,10$	-1,5
	50 (1,7)	$5,40 \pm 0,11$	$3,70 \pm 0,12$	-1,7
	100 (2,0)	$4,40 \pm 0,10$	$2,60 \pm 0,10$	-1,8
«НБ-Ла-Сота»	D (lgD)	GVII (het)	Ла-Сота (hom)	$\log_2(r_2) = \log_2 T_{het} - \log_2 T_{hom}$
	1 (0)	$7,20 \pm 0,10$	$9,30 \pm 0,10$	-2,1
	25 (1,4)	$6,20 \pm 0,12$	$8,10 \pm 0,09$	-1,9
	50 (1,7)	$5,50 \pm 0,08$	$7,00 \pm 0,12$	-1,5
	100 (2,0)	$5,20 \pm 0,09$	$6,80 \pm 0,14$	-1,6

Примечания: * - стандартная ошибка; hom – гомологичный антиген; het – гетерологичный антиген.

Из данных, представленных в таблице 21, следует, что все исследуемые вакцины вызвали формирование гуморального иммунитета к вирусу ньюкаслской болезни у вакцинированных цыплят. Кроме того, уровень титров антител был тем выше, чем большая концентрация антигена НБ содержалась в прививном объеме вакцин. Титры антител в группах цыплят, привитых цельным антигеном в составе вакцины, составляли титры в пределах от $6,40 \log_2$ ГАЕ до $10,00 \log_2$ ГАЕ. Также

было отмечено, что титры антител в РТГА несколько различались при постановке реакции с различными антигенами. Наибольшие титры антител к антигену «Ла-Сота» выявляли в группах цыплят, привитых вакцинами «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «НБ-Ла-Сота»: $9,30 \log_2$ ГАЕ для обеих вакцин. Наиболее высокие титры антител к антигену «ВНИИЗЖ G7» выявляли после вакцинации препаратами «НБ-G7» и «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти».

Таким образом установили, что напряженность поствакцинального гуморального иммунитета зависела от концентрации антигена в прививном объеме вакцины. Кроме того, все однократно измеренные величины логарифмической разности между значениями титров в гетеро- и гомологичных реакциях ($\log_2 T_{\text{het}} - \log_2 T_{\text{hom}}$) имели отрицательные значения, что указывало на меньшую эффективность образования иммунных комплексов в гетерологичной системе. Для моновалентной вакцины из штамма «Ла-Сота» показатель разницы достиг $2,10 \log_2$ ГАЕ что соответствует уменьшению протективной активности данной вакцины в 4,29 раз против гетерологичного штамма НБ генотипа VII.

В основе исследования, охватившего изучение протективной активности сразу четырех вакцин против НБ, послужил проведенный ранее опыт по сравнительной оценке иммунологических свойств двух моновалентных вакцин против ньюкаслской болезни: на основе антигена вируса НБ генотипа VII штамма «ВНИИЗЖ G7» и на основе антигена вируса НБ генотипа II штамма «Ла-Сота».

Подробные результаты исследования приведены в таблице 22.

Таблица 22 – Показатели иммунологического действия инактивированных вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота»

Вакцина на основе антигена	Доза антигена (D)	Результаты РТГА соответственно антигену		Клинический показатель	PD ₅₀
		log ₂ (T±S)**			
	D* (lg D)	«Ла-Сота»	«ВНИИЗЖ G7»	(Σc)/n***	
«ВНИИЗЖ G7»	1 (0)	3,55±0,3	5,60±0,6	0/10	105
	1:25 (1,40)	3,33±0,3	5,67±0,6	0/10	
	1:50 (1,70)	3,43±0,5	5,43±0,7	3/10	
	1:100 (2,00)	1,25±0,3	3,00±0,6	5/10	
«Ла-Сота»	1(0)	6,00±0,4	3,61±0,4	0/10	50
	1:25 (1,40)	6,00±0,6	3,44±0,4	2/10	
	1:50 (1,70)	4,33±0,4	2,83±0,4	7/10	
	1:100 (2,00)	3,50±0,8	1,83±0,3	7/10	
контроль	не вакцинирован	2,10±1,6	1,8±1,2	10/10	

Примечания:

* - величина разведения антигена в составе препарата (D=1 обозначен не разведенный антиген);

** - средний логарифмический титр антител и соответствующее стандартное отклонение, установленные перед заражением птиц;

*** - Σс - суммарное количество клинически больных и погибших особей за период наблюдений; n – число птиц в группе до заражения.

В ходе поставленного эксперимента было установлено, что более высокие титры поствакцинальных антител на 28 сутки после вакцинации вырабатывались против гомологичного антигена в сравнении с гетерологичным (таблица 22). Кроме того, результаты контрольного заражения указывали на более выраженную протективную активность моновалентной вакцины на основе антигена «ВНИИЗЖ G7» при заражении птиц вирулентным вирусом ньюкаслской болезни VII генотипа. Данные выводы также подкреплены рассчитанной величиной 50%-протективной дозы для каждой из исследуемых вакцин: 105 PD₅₀/0,5см³ для вакцины из штамма «ВНИИЗЖ G7» и 50 PD₅₀/0,5см³ для вакцины из штамма «Ла-Сота».

Сравнивая между собой два представленных опыта, является возможным заключить, что используемые в настоящем исследовании моновалентные вакцины из штаммов «ВНИИЗЖ G7» и «Ла-Сота» были усовершенствованы, что прямо отразилось на титрах поствакцинальных антител, клиническом показателе и, как

следствие, на установленной величине 50%-протективной дозы. Все указанные показатели превышали аналогичные критерии оценки в предыдущем опыте.

Таким образом, на основании результатов контрольного заражения и оценки гуморального иммунитета установили, что моновалентная вакцина из штамма «ВНИИЗЖ G7» являлась наиболее иммуногенным препаратом для контроля ньюкаслской болезни кур, вызванной вирусом генотипа VII, среди четырех исследуемых вакцин. Вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» продемонстрировали несколько меньший протективный эффект, однако все равно превзошли по клиническому показателю моновалентную вакцину из штамма «Ла-Сота». Полученные в ходе исследования данные подтверждают результаты, полученные ранее другими авторами [128, 156], указывающими на возможную неэффективность вакцинации в случае недостаточного генетического соответствия между вакцинными и полевыми штаммами вируса ньюкаслской болезни. Обозначенная проблема, в свою очередь, делает актуальной задачу по совершенствованию мер специфической профилактики ньюкаслской болезни и актуализации вакцинных штаммов в соответствии с эпизоотической ситуацией как в мире, так и в конкретном регионе ее применения.

3.4 Обсуждение результатов

Ньюкаслская болезнь входит в перечень notiфицируемых заболеваний, опубликованный ВОЗЖ, и является актуальной проблемой современного птицеводства. Известно, что штаммы вируса НБ генотипа VII обладают высокой степенью вирулентности и способны вызывать вспышки болезни во всем мире [160]. Тем не менее большинство вакцин против ньюкаслской болезни разработаны на основе живых или инактивированных штаммов вируса НБ генотипов I и II, выделенных в прошлом веке, включая штаммы Ла-Сота, B1, Ulster/67, Mukteswar и VG/GA [114]. При должном применении такие вакцины могут предотвратить вспышку болезни и гибель поголовья, однако они не всегда препятствуют распространению вируса [90]. По данным многих авторов, генотипы II и VII существенно отличаются друг от друга, демонстрируя генетическое

несоответствие 21,6% при условии, что 10% - это порог для установления нового генотипа [151, 195]. Подобное различие вполне способно влиять на результат вакцинации и приводить к возникновению вспышек ньюкаслской болезни, вызванной вирусами VII генотипа, даже в иммунизированных стадах. Многочисленные экспериментальные исследования, произведенные зарубежными авторами в отношении вакцин на основе ВНБ генотипа VII, показали, что гомологичные вакцины демонстрируют большую протективную активность для цыплят, чем вакцины на основе вируса НБ генотипа II [144, 149, 160, 170, 202]. В связи с этим целесообразным решением является разработка отечественных вакцин против ньюкаслской болезни на основе ВНБ генотипа VII, обладающих высоким протективным эффектом и способных защитить поголовье от высоковирулентных полевых изолятов.

Инфекционная активность вируса на чувствительных живых системах является одной из первостепенных характеристик, влияющих на перспективы его применения в производственной и диагностической сфере, в то время как титр гемагглютинации служит количественной мерой вирусного антигена в вакцине [207]. По результатам исследований инфекционная активность штамма «ВНИИЗЖ G7» вируса НБ составила $9,33 \lg \text{ЭИД}_{50}/\text{см}^3$, а гемагглютинирующая активность – $8,33 \log_2 \text{ГАЕ}$. Кроме того было установлено, что вирус способен накапливаться в куриных эмбрионах в титрах, достаточных для получения активного вируссодержащего материала. Заражающая доза, равная $5,0 \lg \text{ЭИД}_{50}$, являлась наиболее подходящей для получения вируссодержащей суспензии в промышленных условиях. Также штамм «ВНИИЗЖ G7» обладал стабильным фенотипом и накапливался в максимальной концентрации в ЭЭЖ товарных куриных эмбрионов при культивировании в течение 48 ч. Полученные данные о свойствах штамма «ВНИИЗЖ G7» позволили сделать заключение о целесообразности его использования в производственных целях.

Главной целью инактивации при производстве вакцин является сделать вирус неспособным к какой-либо репликации и в то же время сохранить его внешние структурные белки для стимуляции иммунного ответа [99]. Инактивация

вируса ньюкаслской болезни может быть достигнута физическим (путем нагрева, УФ-излучение) и химическим (использование β -пропиолактона, димер этиленимина, формалина) способами [155]. В проведенном исследовании по подбору оптимального режима инактивации вируса НБ штамма «ВНИИЗЖ G7» в качестве инактивирующего агента был использован 15%-й водный раствор 1-(2-аминоэтил)-азиридина. В ходе эксперимента было установлено, что наиболее эффективный режим инактивации достигался при концентрации 1-(2-аминоэтил)-азиридина 0,25% при температуре 37°C в течение 24 ч, что частично [2] или полностью согласуется с данными, описанными другими авторами [1].

В рамках представленной работы был проведен ряд исследований, посвященных изучению биологических свойств штамма вируса ньюкаслской болезни «NDV-Saratov» с целью его применения в экспериментах с контрольным заражением. Для проверки эффективности вакцин в СССР использовали вирулентный вирус НБ II генотипа штамм Томилинский Т-53, инфекционная активность которого составляла 7,5-10,0 lg ЭИД₅₀/см³, а антигенная активность находилась в пределах 8-9 log₂ [15]. Современная эпизоотическая ситуация по ньюкаслской болезни демонстрирует значительное число вспышек по всему миру, вызванных вирусами VII генотипа. Это подчеркивает необходимость оценки эффективности вакцин в контролируемых условиях с использованием вирулентных штаммов VII генотипа, гомологичных полевым. Результаты, полученные в ходе проведенных исследований, позволили охарактеризовать биологические свойства вируса ньюкаслской болезни штамма «NDV-Saratov» и сравнить его с вирулентным вирусом НБ генотипа II штаммом Томилинский Т-53. Таким образом было установлено, что исследуемый штамм «NDV-Saratov» вируса НБ относился к генотипу VII субгенотипу VII.1.1, обладал инфекционной активностью, равной 9,08 lg ЭИД₅₀/см³, и гемагглютинирующей активностью, равной 6,33 log₂ ГАЕ. При этом среднее время гибели эмбрионов составило 58,8 ч, а значение 50%-летальной дозы вируса – 9,23 lg LD₅₀/см³. Патогенность вирусов ньюкаслской болезни можно определить несколькими методами, наиболее достоверными из которых считаются установление определенной генетической

последовательности и оценка индекса интрацеребральной патогенности (ICPI) [105]. Наиболее вирулентные вирусы имеют значение ICPI, приближающееся к максимальному баллу 2,0, тогда как лентогенные и бессимптомные кишечные штаммы показывают индексы, близкие к 0,0. Вирусы, имеющие индекс выше 0,7, согласно данной классификации являются везогенными [95]. В результате исследования было установлено, что последовательность сайта расщепления белка F0 штамма «NDV-Saratov» имела вид 112-RRQKR^F-117, а индекс интрацеребральной патогенности был равен 1,6, что позволило считать его везогенным. Вирус контагиозен, то есть способен передаваться от больных птиц здоровым вызывать их 100% гибель при заражении в дозе 6 lg ЭИД₅₀. Указанные характеристики штамма «NDV-Saratov» позволили считать его подходящим для использования в качестве референтного, в частности, для проведения контрольного заражения при оценке эффективности препаратов специфической профилактики ньюкаслской болезни.

Патологоанатомические признаки, описанные при моделировании инфекционного процесса, вызванного штаммом «NDV-Saratov», в целом соответствовали результатам, полученным другими авторами при проведении аналогичных исследований [97, 186]. Патологические изменения со стороны головного мозга были обнаружены у всех зараженных птиц вне зависимости от наличия или степени выраженности симптомов, способа заражения или срока гибели. Изменение цвета селезенки и увеличение ее размеров являлось часто встречаемым признаком, несмотря на то, что некоторые источники указывают на отсутствие изменений данного органа при патологоанатомической диагностике ньюкаслской болезни [33]. Специфические патологоанатомические признаки развивались у особей, павших не ранее 24 ч с момента окончания инкубационного периода, а при острой форме заболевания и ранней гибели птицы имели неспецифический характер, делая процедуру вскрытия не информативной для посмертной диагностики ньюкаслской болезни.

В условиях промышленного птицеводства на результат вакцинации влияет ряд факторов, включая условия содержания и график иммунизации птицы, однако

первостепенное значение имеет качество препаратов специфической профилактики. Значительная часть настоящей работы отведена изучению иммунобиологических свойств инаktivированных вакцин против ньюкаслской болезни, поскольку вакцинация лежит в основе стратегии борьбы с НБ и защиты популяций домашней птицы в эндемичных регионах [146].

Антигенная активность в вакцине говорит о способности антигена специфически взаимодействовать с факторами иммунитета [16]. Следовательно, данный показатель непосредственно определяет качество биопрепаратов специфической профилактики. Концентрация антигена в вакцине также влияет на длительность и интенсивность иммунного ответа птицы [25]. Кроме того, создание «депо» антигена в месте введения вакцины за счет его высокой концентрации удлиняет срок пребывания препарата в организме, повышает иммуногенность и позволяет уменьшить кратность вакцинаций [27]. В ходе проведенного эксперимента по оценке иммуногенности вакцин против ньюкаслской болезни, содержащих различные разведения антигена, была рассчитана величина 50%-протективной дозы для каждой из исследуемых вакцин: моновалентной вакцины из штамма «ВНИИЗЖ G7», моновалентной вакцины из штамма «Ла-Сота», а также для вакцин с торговыми наименованиями «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти». В результате было установлено, что все исследуемые вакцины вызывали формирование напряженного поствакцинального иммунитета спустя 28 суток после вакцинации в группах с цельным содержанием антигена. Титры поствакцинальных антител на 28 сутки после введения вакцины «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» составляли $9,30 \log_2$ ГАЕ к антигену «Ла-Сота» и $10,00 \log_2$ ГАЕ к антигену «ВНИИЗЖ G7», после иммунизации вакциной «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» – $6,40 \log_2$ ГАЕ и $8,10 \log_2$ ГАЕ соответственно. В эксперименте с контрольным заражением было установлено, что количество павших животных после вакцинации различалось в зависимости от использованной вакцины и разведения антигена в ней. Во всех опытных группах с уменьшением концентрации антигена в вакцине отмечалось увеличение гибели птиц. Тем не менее моновалентная вакцина на основе штамма

«ВНИИЗЖ G7», а также вакцины на основе штаммов II и VII генотипов вируса ньюкаслской болезни «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» показали более высокий уровень иммуногенной активности в группах с разведенным антигеном в сравнении с моновалентной инактивированной вакциной из штамма «Ла-Сота».

Реактогенное действие вакцины подразумевает под собой способность препарата вызывать нежелательные иммунологические реакции у целевых животных. Реактогенность вакцин определяется рядом факторов, в том числе токсическим эффектом компонентов, фармакодинамической и иммунологической активностью вакцины и возможной контаминацией токсичными веществами [28]. Исследования инактивированных вакцин против ньюкаслской болезни «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» и «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» позволило установить, что обе вакцины являлись ареактогенными и безвредными для внутримышечного введения цыплятам 30-суточного возраста при оптимальной прививной дозе 0,5 см³.

Эффективность вакцины зависит не только от компонентного состава, но и от адъювантов, которые часто используются для более эффективной стимуляции иммунной системы [127]. Адъюванты обладают иммуностимулирующим эффектом, а в некоторых случаях повышают стабильность антигенного компонента, продлевая период его полураспада и косвенно улучшая его иммуногенную силу [119]. Сравнительная оценка иммуностимулирующих свойств адъювантов «Coralvac RZ 528» (аналогичного адъюванту «Montanide ISA 70 VG») и «Montanide ISA 78 VG» позволила сделать заключение, что оба исследуемых адъюванта оказались эффективны в составе инактивированной вакцины против НБ и на 25-е сутки после вакцинации вызывали формирование у цыплят напряженного иммунитета. При этом 100% защиту цыплят от гибели наблюдали через 15 суток после иммунизации вакциной на основе адъюванта «Montanide ISA 78 VG», в то время как у цыплят, привитых вакциной на основе адъюванта «Coralvac RZ 528» – через 25 суток. Полученные данные во многом соответствуют сообщениям других авторов, исследовавших иммуностимулирующие свойства адъювантов «Montanide

ISA 78 VG» и «Montanide ISA 70 VG». Так, согласно Akmyrzayev N. et al., 2025 [171], титры поствакцинальных антител в группе птиц, получавшей вакцину с «Montanide ISA 78 VG», были выше на всех зачетных точках эксперимента, начиная с 14-ти суток, по сравнению с группой, получавшей вакцину с «Montanide ISA 70 VG». Также был установлен резкий подъем уровня антител в обеих группах на 15-е сутки после иммунизации. Более быстрое наступление иммунитета отмечали исследователи при использовании адъюванта «Montanide ISA 78 VG» в вакцинах против гриппа [68] и респираторного микоплазмоза птиц [26], а также парвовируса гусей [147]. Кроме того было отмечено, что птицы, имеющие минимальный защитный титр антител на уровне $5 \log_2$ ГАЕ, продолжали гибнуть в обеих опытных группах. Данные сведения согласуются с результатами других исследователей, установивших, что против высоковирулентных вирусов ньюкаслской болезни защитный титр антител $5 \log_2$ ГАЕ является недостаточным [143].

Некоторые авторы отмечают, что инактивированные вакцины на основе штамма «Ла-Сота» демонстрируют более низкие титры антител против гетерологичного вируса, чем против гомологичного антигена [49, 63]. Результаты настоящих исследований, посвященных оценке протективной активности инактивированных вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов вируса НБ II и VII генотипа, позволяют подтвердить данную информацию. В ходе перекрестной реакции торможения гемагглютинации было установлено, что показатели титра антител на 28-е сутки после иммунизации цельной дозой вакцины на основе антигена «Ла-Сота» достигли значений $9,30 \log_2$ ГАЕ соответственно гомологичному антигену и $7,20 \log_2$ ГАЕ – соответственно гетерологичному антигену «ВНИИЗЖ G7». Таким образом, разница показателей составила $2,10 \log_2$ ГАЕ, что означает, что изучаемая вакцина на основе штамма «Ла-Сота» демонстрировала меньшую протективную активность в отношении гетерологичного штамма вируса НБ генотипа VII в 4,29 раза. Полученные данные указывают на значимость разработки и последующего применения вакцин на основе актуальных для региона штаммов вируса ньюкаслской болезни.

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. Вакцина против ньюкаслской болезни инактивированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти» (приложение 1);
- СТО 00495527-0468. Вакцина против ньюкаслской болезни (G7 и Ла-Сота) и гриппа птиц H9N2 (Y280 и G1) ассоциированная инактивированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти» (приложение 2).

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» (приложение 3).

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» (приложение 4).

4.3 Перспективы дальнейшей разработки

Исследование свойств вирусов ньюкаслской болезни, относящихся к VII генотипу, является перспективным в силу их широкой распространенности по всему миру и высокой вирулентности для сельскохозяйственной птицы. Изучение их основных биологических характеристик, 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 НБ, 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.

5. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВНБ – вирус ньюкаслской болезни

ГП – грипп птиц

КЭ – куриные эмбрионы

МЛД – минимальная летальная доза

НБ – ньюкаслская болезнь

СВГ – среднее время гибели эмбрионов

СПФ – (SPF – specific pathogen free – «свободный от специфических патогенов») - категория куриных эмбрионов, в организме которых исключено присутствие инфекционных агентов (вирусных или бактериальных), вызывающих 18 основных заболеваний птиц, а также – присутствие антител к данным агентам

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РГА – реакция гемагглютинации

РТГА – реакция торможения гемагглютинации

ЭЭЖ – экстраэмбриональная жидкость

ЭИД₅₀ – 50%-ная эмбриональная инфицирующая доза (доза вируса, вызывающая инфекционный процесс у 50% инфицированных эмбрионов).

ICPI – индекс интрацеребральной патогенности

D – величина разведения материала (в долях от объема).

LD₅₀ – 50%-ная летальная доза

PD₅₀ – 50%-ная протективная доза

T – обозначение величины титра (инфекционного вируса или сывороточных антител).

6. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ процесса инактивации вируса ньюкаслской болезни / Д. С. Гарькина, Н. В. Мороз, А. А. Пяткина [и др.] // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2022. – Т. 18. – С. 536-555.
2. Вакцина ассоциированная против ньюкаслской болезни, реовирусного теносиновита и метапневмовирусной инфекции птиц инактивированная эмульсионная / Р. В. Яшин, С. К. Старов, Т. Б. Манин, А. Б. Сарбасов. – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» ФГБУ «ВНИИЗЖ», .
3. Вакцина против ньюкаслской болезни птиц / А. И. Григоренко, А. А. Махлай, А. В. Колосков, [и др.]. – 1999.
4. Вакцина Himmvac Dalguban AN Plus Oil Vaccine. – URL: <https://pharminindustria.com/catalog/vakciny/vaktsina-himmvac-dalguban-an-plus-oil-vaccine/> (дата обращения: 29.01.2026). – Текст : электронный.
5. Вакцина Himmvac Dalguban N (Plus) Oil Vaccine. – URL: [https://pharminindustria.com/catalog/vakciny/vaktsina-himmvac-dalguban-oil/#:~:text=Вакцина%20Himmvac%20Dalguban%20N%20\(Plus\)%20Oil%20Vaccine.](https://pharminindustria.com/catalog/vakciny/vaktsina-himmvac-dalguban-oil/#:~:text=Вакцина%20Himmvac%20Dalguban%20N%20(Plus)%20Oil%20Vaccine.) (дата обращения: 29.01.2026). – Текст : электронный.
6. Ван дер Варден Б. Л. Математическая статистика / Ван дер Варден Б. Л. – Москва : Издательство иностранной литературы, 1960. – 434 с.
7. Глущенко, А. В. Биологические свойства вирусов болезни Ньюкасла, выделенных из природных резервуаров среди диких птиц в различных регионах России в 2008-2018 гг. : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.10 «Вирусология» / А. В. Глущенко. – Владимир : ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», 2022. – 118 с.
8. ГОСТ 25587-83. Птица сельскохозяйственная. Методы лабораторной диагностики болезни Ньюкасла : межгосударственный стандарт / Москва : Стандартиформ. – 1893.

9. ГОСТ 33215-2015. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур : межгосударственный стандарт / Москва : Стандартиформ. – 2015.
10. ГОСТ 34088-2017. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за сельскохозяйственными животными : межгосударственный стандарт / Москва : Стандартиформ. – 2017.
11. ГОСТ Р 57547-2017. Услуги для непродуктивных животных. Патологоанатомическое исследование трупов непродуктивных животных. Общие требования : национальный стандарт Российской Федерации / Введ. 2017-09-01 (утв. и введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 19 июля 2017 г. №726-ст). – 2017.
12. ГОСТ Р 58090-2018. Национальный стандарт Российской Федерации. Клиническое обследование непродуктивных животных. Общие требования: национальный стандарт Российской Федерации / Москва : Стандартиформ. – 2018.
13. Ельников, В. В. Технология изготовления ассоциированной инактивированной вакцины против ньюкаслской болезни и реовирусного теносиновита птиц : автореферат диссертации на соискание степени кандидата ветеринарных наук : 16.00.03 / В. В. Ельников. – Владимир : ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», 2003. – 24 с.
14. Иммунологические свойства инактивированных вакцин против ньюкаслской болезни на основе антигенов вируса VII и II генотипа / Н. В. Мороз, Д. Л. Долгов, И. А. Комаров [и др.] // Международный вестник ветеринарии. – 2024. – № 1. – С. 41-47.
15. Капустина, О. В. Разработка и совершенствование средств и методов контроля особо опасных инфекций, вызываемых вирусами порядка Mononegavirales : диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / О. В. Капустина. – Вольгинский : Государственное научное учреждение всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии, 2016. – 306 с.

16. Максимова, Н. Е. Основы иммуноанализа: учебное пособие / Н. Е. Максимова, Н. Н. Мочульская, В. В. Емельянов. – Екатеринбург : Издательство Уральского Университета, 2021. – 148 с.
17. Методические рекомендации по анализу параметров в системах «доза-эффект» с альтернативным способом оценивания / В. Ю. Кулаков, С. Н. Колосов, А. В. Константинов, [и др.]. – Владимир : ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2016. – 31 с.
18. Методические рекомендации по выделению вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в развивающихся эмбрионах кур / В. Ю. Сосипаторова, Ир. А. Чвала, Д. А. Алтунин, Ил. А. Чвала. – Владимир : ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2016. – 10 с.
19. Методические рекомендации по выявлению РНК вируса ньюкаслской болезни методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. (Взамен МР 47-16) [Текст] : утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 25.12.2024 / 131-24 / А. В. Андриясов, Е. В. Овчинникова, Л. О. Щербакова, [и др.]. – Владимир : ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024. – 30 с.
20. Методические рекомендации по идентификации вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации / В. Ю. Сосипаторова, Ир. А. Чвала, М. А. Циванюк, [и др.]. – Владимир : ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2016. – 15 с.
21. Методические рекомендации по определению первичной структуры генов F и HN изолятов вируса ньюкаслской болезни генотипа VI с помощью ОТ-ПЦР и нуклеотидного секвенирования [Текст] : утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 30.11.2022 / 87-22 / Н. А. Гусева, С. Н. Колосов, А. В. Андриясов, [и др.]. – Владимир : ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022. – 29 с.
22. Методические рекомендации по отбору, хранению и транспортировке проб биоматериала для проведения диагностических исследований на грипп птиц и болезнь Ньюкасла: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 24.06.2019 / Д. Б. Андрейчук, А. В. Андриясов, М. А. Волкова, [и др.]. – Владимир, 2019. – 17 с.

23. Ньюкаслская болезнь. Обзор ситуации в РФ. Стратегия профилактики / Е. А. Авситидийский, В. В. Борисов, С. Н. Норкина, Т. Н. Рождественская // Птицеводство. – 2024. – № 9. – С. 63-70.
24. О роли диких птиц в сохранении и распространении птичьего парамиксовируса серотипа 1 (вирус болезни Ньюкасла) на территории Сибири и Дальнего Востока, Россия / А. В. Глущенко, К. С. Юрченко, А. К. Юрлов [и др.] // Юг России: экология, развитие. – 2026. – № 2. – С. 50-58.
25. Основы иммунопрофилактики : учебно-методическое пособие / А. М. Дронина, Т. С. Гузовская, И. В. Северинчик, [и др.]. – Минск : БГМУ, 2019. – 138 с.
26. Панкратов, С. В. Использование MONTANIDE ISA 78 VG в качестве адъюванта при изготовлении противобактериальных вакцин для кур / С. В. Панкратов // Аграрная наука. – 2024. – Т. 1. – № 8. – С. 51-55.
27. Перетрухина, А. Т. Бактерийные и вирусные препараты : учебник / А. Т. Перетрухина, Е. И. Блинова. – Москва : Академия Естествознания, 2010.
28. Поствакцинальные осложнения (клиника, диагностика, лечение, профилактика). Учебное пособие / Е. А. Лакоткина, С. М. Харит, Т. В. Черняева, Н. К. Брусов. – Москва : Союз педиатров России, 2004. – 80 с.
29. Правила регулирования обращения ветеринарных лекарственных средств на таможенной территории Евразийского экономического союза : решение Совета Евразийской экономической комиссии от 21 января 2022 г. № 1. – 2022.
30. Проект приказа Министерства сельского хозяйства Российской Федерации «Об утверждении Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов болезни Ньюкасла». – 2018.
31. Прозоровский, В. Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В. Б. Прозоровский // Психофармакология биол. наркология. – 2007. – Т. 7. – № 3-4. – С. 2090-2120.

32. Росстат сообщил о росте производства скота и птицы в 2024 году на 2,1%. – URL: <https://www.interfax.ru/business/1004802> (дата обращения: 27.01.2025). – Текст : электронный.
33. Смердова, М. Д. Патологическая анатомия, секционный курс, судебно-ветеринарная экспертиза: электронный учебно-методический комплекс. / М. Д. Смердова. – Красноярск : ФГБОУ ВПО «Красноярский государственный аграрный университет», 2012. – 731 с.
34. Сравнительная оценка эффективности вакцин против ньюкаслской болезни, вызванной вирусом VII генотипа / Н. В. Мороз, С. В. Фролов, В. Ю. Кулаков, Н. А. Гусева // Эффективное животноводство. – 2022. – Т. 5. – № 180. – С. 68-73.
35. Стандарт ФГБУ «ВНИИЗЖ». Вакцина против ньюкаслской болезни из штамма «ВНИИЗЖ НБ-Эн» сухая живая «ВНИИЗЖ НБ-Эн». Технические условия. – 2023.
36. Стандарт ФГБУ «ВНИИЗЖ». Вакцина против ньюкаслской болезни инактивированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти». Технические условия. – 2024.
37. Стандарт ФГБУ «ВНИИЗЖ». Вакцина против ньюкаслской болезни инактивированная эмульсионная «ВНИИЗЖ-АвиНьюФлу Мульти». Технические условия. – 2024.
38. Стандарт ФГБУ «ВНИИЗЖ» на штаммы вируса ньюкаслской болезни диагностические. Методы изготовления и контроля посевного материала. – 2018.
39. Стандарт ФГБУ «ВНИИЗЖ». Штамм «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни производственный. Методы изготовления и контроля посевных материалов. – 2022.
40. Стандарт ФГУ «ВНИИЗЖ». Животные лабораторные. Использование для контроля и экспериментов. – 2021.
41. Сухая живая вакцина против ньюкаслской болезни и способ ее получения / А. И. Григоренко, А. В. Колосков, В. Н. Бредихин, [и др.]. – 2000.
42. Урбах, В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях / В. Ю. Урбах. – Москва : Медицина, 1975. – 297 с.

43. ФГБУ «ВНИИЗЖ». Инструкция по ветеринарному применению вакцины «ВНИИЗЖ-АвьНью Мульти» / ФГБУ «ВНИИЗЖ». – 2025.
44. ФГБУ «ВНИИЗЖ». Инструкция по ветеринарному применению вакцины «ВНИИЗЖ-АвьНьюФлу Мульти» / ФГБУ «ВНИИЗЖ». – 2025.
45. Ферстер, Э. Методы корреляционного и регрессионного анализа / Э. Ферстер, Б. Ренц. – Москва : Финансы и статистика, 1983. – 304 с.
46. Эпизоотическая ситуация по высокопатогенному гриппу птиц и болезни Ньюкасла в Российской Федерации в 2016-2020 год / О. Н. Виткова, А. К. Караулов, В. Н. Ирза [и др.] // Эффективное животноводство. – 2021. – Т. 4. – № 170. – С. 76-78.
47. Эффективность вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в отношении актуальных вирусов VII генотипа / С. В. Фролов, Н. В. Мороз, И. А. Чвала, В. Н. Ирза // Ветеринария сегодня. – 2021. – Т. 1. – № 1. – С. 44-51.
48. 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 / E. W. Aldous, J. K. Mynn, J. Banks, D. J. Alexander // Avian Pathology. – 2003. – Т. 32. – № 3. – С. 237-255.
49. A vaccine candidate of attenuated genotype VII Newcastle disease virus generated by reverse genetics / S. Hu, H. Ma, Y. Wu [и др.] // Vaccine. – 2009. – № 27. – С. 904-910.
50. Alexander, D. J. Newcastle disease. Chapter 2.3.14. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals / D. J. Alexander. – Paris, France: OIE, the World Organisation for Animal Health, 2009.
51. Allan W. H. L'hygiène dans la lutte contre la maladie de Newcastle : Collection FAO. Production et santé animale / Allan W. H., Lancaster J. E., Toth B. // Vaccin contre la maladie de Newcastle: production et utilisation. – 1980. – № 10. – С. 1-178.
52. Animal Health Australia. Disease strategy: Newcastle disease (Version 3.3). Australian Veterinary Emergency Plan (AUSVETPLAN) / Animal Health Australia. – 3. – Canberra, ACT : Agriculture Ministers' Forum, 2014.

53. Ashraf, A. Newcastle Disease: Present status and future challenges for developing countries / A. Ashraf, M. S. Shah, // *African Journal of Microbiology Research*. – 2014. – Т. 8. – Newcastle Disease. – № 5. – С. 411-416.
54. Avian Paramyxovirus Type 1 in Egypt: Epidemiology, Evolutionary Perspective, and Vaccine Approach / S. M. G. Mansour, R. M. ElBakrey, F. F. Mohamed [и др.] // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2021. – Т. 8. – Avian Paramyxovirus Type 1 in Egypt. – С. 647462.
55. Bacigalupo, S. Preliminary Outbreak Assessment - Newcastle disease in Europe. ND in Europe / S. Bacigalupo, A. Pacey, L. Perrin. – Department for Environment, Food and Rural Affairs Animal and Plant Health Agency Animal Health and Welfare Advice - International Disease Monitoring, 2023.
56. Beard CW. Newcastle disease / Beard CW, Hanson RP // *Diseases of Poultry*. – Ames, Iowa, USA : Iowa State University Press, 1981. – С. 452-470.
57. Bensink, Z. Newcastle disease virus strain I2 - A prospective thermostable vaccine for use in developing countries / Z. Bensink, P. Spradbrow // *Veterinary Microbiology*. – 1999. – Т. 68. – № 1-2. – С. 131-139.
58. Bulbule, N. R. Virulence of Newcastle Disease Virus and Diagnostic Challenges / N. R. Bulbule // *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. – 2015. – Т. 3. – № 5s. – С. 14-21.
59. Cross, G. M. Newcastle Disease — Vaccine Production / G. M. Cross. – Текст : электронный // *Newcastle Disease* / сост. Y. Becker, J. Hadar; ред. D. J. Alexander. – Boston, MA : Springer US, 1988. – Т. 8. – С. 333-346. – URL: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4613-1759-3_18 (дата обращения: 10.12.2025).
60. Determination of humoral immunity level of broiler grandparent following vaccination with Newcastle disease virus / M. A. A. Hasan, M.A.A. Mahmud, S. Ahmed [и др.] // *International Journal of Natural and Social Sciences*. – 2015. – № 2(3). – С. 75-81.
61. Development and Manufacture of an Inactive OH Emulsion Newcastle Disease Vaccine in Iran. / A. A. Mohammadi, P. Hooshmand-Rad, P. Ahourae [и др.] // *Arch. Inst. RAZI*. – 1996. – № 46/47. – С. 91-99.

62. Doyle T. M. A hitherto unrecognized disease of fowls due to a filter-passing virus / Doyle T. M. // J. Com. Pathol. Ther. – 1927. – Т. 40. – С. 144-169.
63. Effects of Newcastle disease virus vaccine antibodies on the shedding and transmission of challenge viruses / P. J. Miller, C. L. Alfonso, El Attrache J [и др.] // Developmental & Comparative Immunology. – 2013. – Т. 41. – С. 505-513.
64. Effect of Newcastle disease virus level of infection on embryonic length, embryonic death, and protein profile changes / D. Qosimah, S. Murwani, E. Sudjarwo, M. A. Lesmana // Veterinary World. – 2018. – Т. 11. – № 9. – С. 1316-1320.
65. Effectiveness of different Newcastle disease vaccination programs in Iranian broiler farms: a case-control study / S. Alian Samakkhah, A. Bahonar, S. A. Ghafouri [и др.] // Journal of Poultry Sciences and Avian Diseases. – 2023. – Т. 1. – Effectiveness of different Newcastle disease vaccination programs in Iranian broiler farms. – № 4. – С. 3-12.
66. EUROPEAN PHARMACOPOEIA. – 8. – Strasbourg, France : Council of Europe, 2013. – 3655 с.
67. Evaluation of Potency and Duration of Immunity Elicited by a Multivalent FMD Vaccine for Use in South Africa / F. R. M. Peta, M. M. Sirdar, P. Van Bavel [и др.] // Frontiers in Veterinary Science. – 2021. – Т. 8. – С. 750223.
68. Evaluation of safety, immunogenicity, and efficacy of inactivated reverse-genetics-based H5N8 highly pathogenic avian influenza virus vaccine with various adjuvants via parenteral and mucosal routes in chickens / K. Tabynov, A. Kuanyshbek, L. Yelchibayeva [и др.] // Frontiers in Immunology. – 2025. – Т. 16. – С. 1539492.
69. Family paramyxoviridae / R. A. Lamb, P. L. Collins, D. Kolakofsky [и др.] // Virus taxonomy: 8th report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. – San Diego : Elsevier, 2005. – С. 655-668.
70. FAO. Biosecurity in food and agriculture. Report on the 17th session of the Committee on Agriculture / FAO. – Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003.

71. Himmvac Dalguban N (Plus) Live Vaccine. – URL: https://www.kbnp.net/_mobile/sub02_1_1.html?number=699&xcode=&mcode=01&scode=&page=1 (дата обращения: 29.01.2026). – Текст : электронный.
72. Hodorowicz, W. An overview of Newcastle Disease vaccination strategies.
73. Isolation of newcastle disease virus from commercial broilers in district Abbottabad, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan / N. Saba, N. Yousaf, O. Dad [и др.] // Zoo Botanica. – 2023. – Т. 1. – № 2. – С. 71-77.
74. Kaleta, E. F. Newcastle disease in freeliving and pet birds / E. F. Kaleta, C. Baldauf // Newcastle disease. – Boston : Kluwer Academic, 1988. – С. 197-246.
75. Kraneveld F. C. A poultry disease in the Dutch East Indies / Kraneveld F. C. // Ned. Indisch. Bl. Diergeneeskd. – 1926. – Т. 38. – С. 448-450.
76. Kuiken, T. Review of Newcastle Disease in Cormorants / T. Kuiken // Waterbirds: The International Journal of Waterbird Biology. – 1999. – Т. 22. – № 3. – С. 333.
77. Leighton, F. A. Newcastle disease and related avian paramyxoviruses / F. A. Leighton, R. A. Heckert // Infectious diseases of wild birds. – Oxford : Blackwell Publishing, 2007. – С. 3-16.
78. Ma'arif FA. Gambaran patologi anatomi dan histopatologi organ pertahanan itik Bali pascainfeksi buatan Avian Orthoavulavirus 1 isolat Tabanan-1/ARP/2017 / Ma'arif FA, Adi AAAM, Winaya IBO // Buletin Veteriner Udayana. – 2022. – № 14(6). – С. 659-667.
79. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Newcastle disease. Chapter 2.3.14. – OIE, 2012.
80. MEFLUVACTM H5+H9+ND7. Product Overview. – URL: <https://www.kemin.com/af/en/markets/vaccines/products/mefluvac-h5-h9-nd7> (дата обращения: 29.01.2026). – Текст : электронный.
81. Meulemans, G. Control by vaccination / G. Meulemans // Newcastle disease. – Boston, MA : Kluwer Academic, 1988. – С. 318-332.
82. Miller, P. J. Improved Newcastle disease vaccine strategies to reduce shedding of virulent virus from infected birds : Doctoral dissertation / P. J. Miller. – Athens, Georgia : University of Georgia, 2008.

83. Miller, P. J. Newcastle Disease / P. J. Miller, G. Koch // Disease of Poultry. – Ames, IA : Wiley, Blackwell in partnership with the American Association of Avian Pathologists, 2013. – С. 89-138.
84. Mossie, T. A Compressive Review on Newcastle Disease Virus in Ethiopia / T. Mossie, A. Dessie // Journal of Veterinary Science and Technology. – 2024. – Т. 15:04,. – С. 1-13.
85. NDmoLiveR7. Freeze-dried recombinant Newcastle Disease live vaccine. – URL: <https://biovac.co.il/product/ndmoliver7/> (дата обращения: 29.01.2026). – Текст : электронный.
86. NDmologR7. Inactivated vaccine against Newcastle Disease, rND-LS/”F-HN”g7 Genotype VII strain – in oil emulsion. – URL: <https://biovac.co.il/product/ndmologr7/#:~:text=Inactivated%20vaccine%20against%20Newcastle%20Disease%2C%20rND-LS/”F-HN”g7%20Genotype%20VII%20strain%20-%20in%20oil%20emulsion> (дата обращения: 29.01.2026). – Текст : электронный.
87. NEWCASTLE DISEASE, Aetiology Epidemiology, Diagnosis, Prevention and Control References. Scientific and technical Department.
88. “Newcastle disease,” Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (Mammals, Birds and Bees) / vol.1. – OIE, 2008.
89. Newcastle disease vaccines: an overview. – URL: <https://www.fao.org/4/ac802e/ac802e04.htm> (дата обращения: 17.12.2025). – Текст : электронный.
90. Newcastle Disease Virus in Poultry: Current Status and Control Prospects / A. Moustapha, E. Talaki, A. Akourki, M. Ousseini // World’s Veterinary Journal. – 2023. – Т. 13. – Newcastle Disease Virus in Poultry. – № 2. – С. 240-249.
91. Newcastle disease virus in the intestinal contents of broilers and layers / Ullah S., Ashfaq M., Rahman S. U. [и др.] // Pak. Vet. J. – 2004. – № 24(1). – С. 28-30.
92. № 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 /

Н. В. Мороз, И. А. Чвала, М. А. Вершинина, [и др.]. – Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2024.

93. Nutor, B. Immune response of chicken in newcastle disease vaccine / B. Nutor // *Journal of West African Science Association*. – 1973. – Т. 18. – С. 187-190.
94. Nyaupane, S. A Study to Estimate Longevity of Thermostable Newcastle Disease Vaccine (strain I-2) in Village Chickens of Nepal / S. Nyaupane, B. Pokharel, M. Acharya // *Advances in Life Sciences*. – 2016. – Т. 6. – № 2. – С. 45-48.
95. OIE/FAO international reference laboratory for ND. SOP: VI.438 Edition 10. Newcastle Disease Virus: The Intracerebral Pathogenicity (ICPI) Test for Newcastle Disease Virus (NDV) / OIE/FAO international reference laboratory for ND. – 2019.
96. Pathology and immunohistochemistry study of Newcastle disease field case in chicken in Indonesia / Etriwati, D. Ratih, E. Handharyani, S. Setiyaningsih // *Veterinary World*. – 2017. – Т. 10. – № 9. – С. 1066-1071.
97. Pathology and transmission of experimental velogenic viscerotropic Newcastle disease in wild pigeons, broiler and Aseel chickens / B. Murree, Z. A. Nizamani, I. H. Leghari [и др.] // *Science International*. – 2016. – Т. 28. – № 4. – С. 3965-3971.
98. Placidi, L. Epidemiologie et prophylaxie vaccinale de la maladie de Newcastle au Maroc / L. Placidi, J. Santucci // *Maroc Medicale*. – 1952. – Т. 31. – С. 3-7.
99. Protective efficacy of inactivated Newcastle disease virus vaccines prepared in two different oil-based adjuvants / O. A. Aljumaili, M. B. Bello, S. K. Year [и др.]. – Текст : электронный // *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. – 2020. – Т. 87. – № 1. – URL: <https://ojvr.org/index.php/ojvr/article/view/1865> (дата обращения: 24.11.2025).
100. Review detection of Newcastle disease virus / Q. Mao, S. Ma, P. L. Schrickel [и др.] // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2022. – Т. 9. – С. 936251.
101. Review on Newcastle disease in poultry / K. F.-X. Dzogbema, E. Talaki, K. B. Batawui, B. B. Dao // *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. – 2021. – Т. 15. – № 2. – С. 773-789.
102. Senne, D. A. Control of Newcastle disease by vaccination / D. A. Senne, D. J. King, D. R. Kapczynski // *Developmental Biology*. – 2004. – Т. 119. – С. 165-170.

103. Sero-prevalence of Avian Influenza in Broiler Flocks in District Gujranwala (Pakistan) / B. Cheema, M. Siddique, A. Sharif [и др.] // International Journal of Agriculture and Biology. – 2011. – № 13. – С. 850-856.
104. Siddique, F. Preparation and field evaluation of cell culture adapted lyophilized thermostable Newcastle disease vaccine : Doctoral dissertation / F. Siddique. – Pakistan : University of Agriculture Faisalabad, 2015.
105. Spickler, A. R. Newcastle Disease Avian Paramyxovirus-1 Infection, Goos. Paramyxovirus infection, Ranikhet disease. – URL: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php> (дата обращения: 17.12.2025). – Текст : электронный.
106. Taxon Details | ICTV. – URL: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202401591&taxon_name=Orthoavulavirus%20javaense (дата обращения: 10.12.2025). – Текст : электронный.
107. The positive expression of genotype VII Newcastle disease virus (Malaysian isolate) in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) / L. F. Mazlan, N. F. Bachek, S. N. A. Mahamud [и др.] // Veterinary World. – 2017. – Т. 10. – № 5. – С. 542-548.
108. Tudeka, C. Overview of Newcastle Disease Virus in the Poultry industry / C. Tudeka, B. Kayang, F. Owusu Sarkwa // 1st GSAP/GASA joint conference reviewer list 1st GSAP/GASA joint conference. – Tamale : University For Development Studies, 2021. – С. 245-258.
109. Umer Chhargari, M. Prevention and Control of Newcastle Disease / M. Umer Chhargari // International Journal of Agriculture Innovations and Research. – 2014. – Т. 3. – № 2. – С. 444-460.
110. WAHIS | Quantitative data. – URL: <https://wahis.woah.org/#/dashboards/qd-dashboard> (дата обращения: 18.03.2026). – Текст : электронный.
111. WOAH Terrestrial Manual 2021. Chapter 3.3.14. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). – World Organisation for Animal Health, 2021.
112. WOAH Terrestrial Manual 2026. Chapter 3.3.10. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus) / Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. – World Organisation for Animal Health, 2026.

113. Yune, N. Update on Epidemiology, Diagnosis and Control Technique of Newcastle Disease / N. Yune, N. Abdela. – Текст : электронный // Journal of Veterinary Science & Technology. – 2017. – Т. 08. – № 02. – URL: <https://www.omicsonline.org/open-access/update-on-epidemiology-diagnosis-and-control-technique-of-newcastledisease-2157-7579-1000429.php?aid=87692> (дата обращения: 10.12.2025).
114. A genotype VII Newcastle disease virus-like particles confer full protection with reduced virus load and decreased virus shedding / X. Xu, Z. Ding, Q. Yuan [et al.] // Vaccine. – 2019. – Vol. 37. – № 3. – P. 444-451.
115. A molecular epidemiological investigation of avian paramyxovirus type 1 viruses isolated from game birds of the order *Galliformes* / E. W. Aldous, J. K. Mynn, R. M. Irvine [et al.] // Avian Pathology. – 2010. – Vol. 39. – № 6. – P. 519-524.
116. A Recombinant Turkey Herpesvirus Expressing the F Protein of Newcastle Disease Virus Genotype XII Generated by NHEJ-CRISPR/Cas9 and Cre-LoxP Systems Confers Protection against Genotype XII Challenge in Chickens / K. Calderón, A. Rojas-Neyra, B. Carbajal-Lévano [et al.] // Viruses. – 2022. – Vol. 14. – № 4. – P. 793.
117. A review: Progress in the development of fish *Vibrio* spp. vaccines / Q. Ji, S. Wang, J. Ma, Q. Liu // Immunology Letters. – 2020. – Vol. 226. – A review. – P. 46-54.
118. Abah, H. O. Assessment of biosecurity measures against Newcastle disease in commercial poultry farms in Benue state, Nigeria / H. O. Abah, P. A. Abdu, A. Assam // Sokoto Journal of Veterinary Sciences. – 2017. – Vol. 15. – № 3. – P. 32-37.
119. Adjuvants: Classification, *Modus Operandi* , and Licensing / J. D. S. Apostólico, V. A. S. Lunardelli, F. C. Coirada [et al.] // Journal of Immunology Research. – 2016. – Vol. 2016. – Adjuvants. – P. 1-16.
120. Aldous, E. W. Detection and differentiation of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus type 1) / E. W. Aldous, D. J. Alexander // Avian Pathology. – 2001. – Vol. 30. – № 2. – P. 117-128.
121. Aldous, E. W. Newcastle disease in pheasants (*Phasianus colchicus*): A review / E. W. Aldous, D. J. Alexander // The Veterinary Journal. – 2008. – Vol. 175. – Newcastle disease in pheasants (*Phasianus colchicus*). – № 2. – P. 181-185.

122. Alexander, D. J. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research / D. J. Alexander, E. W. Aldous, C. M. Fuller // *Avian Pathology*. – 2012. – Vol. 41. – The long view. – № 4. – P. 329-335.
123. Alexander, D. J. Ecology and Epidemiology of Newcastle Disease / D. J. Alexander. – Text : electronic // *Avian Influenza and Newcastle Disease* / eds. I. Capua, D. J. Alexander. – Milano : Springer Milan, 2009. – P. 19-26. – URL: http://link.springer.com/10.1007/978-88-470-0826-7_2 (date accessed: 16.12.2025).
124. Alexander, D. J. Newcastle disease / D. J. Alexander // *British Poultry Science*. – 2001. – Vol. 42. – № 1. – P. 5-22.
125. Allan, W. A standard haemagglutination inhibition test for Newcastle disease. (2) Vaccination and challenge / W. Allan, R. Gough // *Veterinary Record*. – 1974. – Vol. 95. – № 7. – P. 147-149.
126. An Outbreak in Pigeons Caused by the Subgenotype VI.2.1.2 of Newcastle Disease Virus in Brazil / L. M. Thomazelli, J. A. Sinhorini, D. B. L. Oliveira [et al.] // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13. – № 12. – P. 2446.
127. An Overview of Vaccine Adjuvants: Current Evidence and Future Perspectives / A. Facciola, G. Visalli, A. Laganà, A. Di Pietro // *Vaccines*. – 2022. – Vol. 10. – An Overview of Vaccine Adjuvants. – № 5. – P. 819.
128. Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge / P. J. Miller, D. J. King, C. L. Afonso, D. L. Suarez // *Vaccine*. – 2007. – Vol. 25. – № 41. – P. 7238-7246.
129. Antigenic variation of LaSota and genotype VII Newcastle disease virus (NDV) and their efficacy against challenge with velogenic NDV / H. Yang, J. Zhao, J. Xue [et al.] // *Vaccine*. – 2017. – Vol. 35. – № 1. – P. 27-32.
130. Assessment of the virulence for chickens of Newcastle Disease virus with an engineered multi-basic cleavage site in the fusion protein and disrupted V protein gene / J. F. De Graaf, S. Van Nieuwkoop, D. De Meulder [et al.] // *Veterinary Microbiology*. – 2022. – Vol. 269. – P. 109437.

131. Awad, M. Molecular differentiation between velogenic isolates and lentogenic LaSota strain of Newcastle disease virus / M. Awad, S. Mosad, A. El-Kenawy // Mansoura Veterinary Medical Journal. – 2020. – Vol. 21. – № 4. – P. 208-216.
132. Beato, M. S. General Rules for Decontamination Following an Outbreak of Avian Influenza or Newcastle Disease / M. S. Beato, P. De Benedictis. – Text : electronic // Avian Influenza and Newcastle Disease / eds. I. Capua, D. J. Alexander. – Milano : Springer Milan, 2009. – P. 133-150. – URL: http://link.springer.com/10.1007/978-88-470-0826-7_12 (date accessed: 24.11.2025).
133. Biosecurity measures for backyard poultry in developing countries: a systematic review / A. Conan, F. L. Goutard, S. Sorn, S. Vong // BMC Veterinary Research. – 2012. – Vol. 8. – Biosecurity measures for backyard poultry in developing countries. – № 1. – P. 240.
134. Brown, V. R. A review of virulent Newcastle disease viruses in the United States and the role of wild birds in viral persistence and spread / V. R. Brown, S. N. Bevins // Veterinary Research. – 2017. – Vol. 48. – № 1. – P. 68.
135. Characterization of a Recombinant Newcastle Disease Virus Vaccine Strain / S.-H. Cho, H.-J. Kwon, T.-E. Kim [et al.] // Clinical and Vaccine Immunology. – 2008. – Vol. 15. – № 10. – P. 1572-1579.
136. Choi, K.-S. Newcastle disease virus vectored vaccines as bivalent or antigen delivery vaccines / K.-S. Choi // Clinical and Experimental Vaccine Research. – 2017. – Vol. 6. – № 2. – P. 72.
137. Complete Genome and Clinicopathological Characterization of a Virulent Newcastle Disease Virus Isolate from South America / D. G. Diel, L. Susta, S. Cardenas Garcia [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. – 2012. – Vol. 50. – № 2. – P. 378-387.
138. Complete Genome Sequencing of a Novel Newcastle Disease Virus Isolate Circulating in Layer Chickens in the Dominican Republic / S. C. Courtney, D. Gomez, L. Susta [et al.] // Journal of Virology. – 2012. – Vol. 86. – № 17. – P. 9550-9550.
139. Current situation and future direction of Newcastle disease vaccines / Z. Hu, X. He, J. Deng [et al.] // Veterinary Research. – 2022. – Vol. 53. – № 1. – P. 99.

140. Czeglédi, A. On the origins and relationships of Newcastle disease virus vaccine strains Hertfordshire and Mukteswar, and virulent strain Herts'33 / A. Czeglédi, E. Wehmann, B. Lomniczi // *Avian Pathology*. – 2003. – Vol. 32. – № 3. – P. 271-276.
141. Development, Biological Characterization, and Immunological Evaluation of Virosome Vaccine against Newcastle Disease in Pakistan / M. H. Rasool, A. Mehmood, M. Saqalein [et al.] // *BioMed Research International*. – 2021. – Vol. 2021. – № 1. – P. 8879277.
142. Diagnostic and Vaccination Approaches for Newcastle Disease Virus in Poultry: The Current and Emerging Perspectives / M. B. Bello, K. Yusoff, A. Ideris [et al.] // *BioMed Research International*. – 2018. – Vol. 2018. – Diagnostic and Vaccination Approaches for Newcastle Disease Virus in Poultry. – P. 1-18.
143. Effect of Different Levels of Maternally Derived Genotype VII Newcastle Disease Virus-Specific Hemagglutination Inhibition Antibodies on Protection against Virulent Challenge in Chicks / M. Liu, X. Shen, Y. Yu [et al.] // *Viruses*. – 2023. – Vol. 15. – № 9. – P. 1840.
144. Efficacy of the Newcastle Disease Virus Genotype VII.1.1-Matched Vaccines in Commercial Broilers / H. A. Sultan, W. K. Elfeil, A. A. Nour [et al.] // *Vaccines*. – 2021. – Vol. 10. – № 1. – P. 29.
145. Epidemiology, control, and prevention of Newcastle disease in endemic regions: Latin America / A. E. Absalón, D. V. Cortés-Espinosa, E. Lucio [et al.] // *Tropical Animal Health and Production*. – 2019. – Vol. 51. – Epidemiology, control, and prevention of Newcastle disease in endemic regions. – № 5. – P. 1033-1048.
146. Evaluation of the Newcastle disease virus genotype VII–mismatched vaccines in SPF chickens: A challenge efficacy study / M. Hassanzadeh, M. Abedi, M. Bashashati [et al.] // *Veterinary and Animal Science*. – 2024. – Vol. 24. – Evaluation of the Newcastle disease virus genotype VII–mismatched vaccines in SPF chickens. – P. 100348.
147. Expression of VP2 protein of novel goose parvovirus in baculovirus and evaluation of its immune effect / Q. Zhang, Y. Sun, Y. Sun [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. – 2024. – Vol. 195. – P. 106751.

148. Gallili, G. E. Newcastle disease vaccines / G. E. Gallili, D. Ben-Nathan // *Biotechnology Advances*. – 1998. – Vol. 16. – № 2. – P. 343-366.
149. Generation of a Genotype VII Newcastle Disease Virus Vaccine Candidate with High Yield in Embryonated Chicken Eggs / Z. Hu, S. Hu, C. Meng [et al.] // *Avian Diseases*. – 2011. – Vol. 55. – № 3. – P. 391-397.
150. Generation of a recombinant chimeric Newcastle disease virus vaccine that allows serological differentiation between vaccinated and infected animals / B. P. H. Peeters, O. S. De Leeuw, I. Verstegen [et al.] // *Vaccine*. – 2001. – Vol. 19. – № 13-14. – P. 1616-1627.
151. Genetic diversity of avian paramyxovirus type 1: Proposal for a unified nomenclature and classification system of Newcastle disease virus genotypes / D. G. Diel, L. H. A. Da Silva, H. Liu [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2012. – Vol. 12. – Genetic diversity of avian paramyxovirus type 1. – № 8. – P. 1770-1779.
152. Genotype VII.1.1-Based Newcastle Disease Virus Vaccines Afford Better Protection against Field Isolates in Commercial Broiler Chickens / A. A. A. Dewidar, W. H. Kilany, A. A. El-Sawah [et al.] // *Animals*. – 2022. – Vol. 12. – № 13. – P. 1696.
153. Gogoi, P. Avian Paramyxovirus: A Brief Review / P. Gogoi, K. Ganar, S. Kumar // *Transboundary and Emerging Diseases*. – 2017. – Vol. 64. – Avian Paramyxovirus. – № 1. – P. 53-67.
154. ICTV Virus Taxonomy Profile: Paramyxoviridae / B. Rima, A. Balkema-Buschmann, W. G. Dundon [et al.] // *Journal of General Virology*. – 2019. – Vol. 100. – ICTV Virus Taxonomy Profile. – № 12. – P. 1593-1594.
155. Intracellular fixation buffer inactivates Newcastle disease virus in chicken allantoic fluid, macrophages and splenocytes / V. Marcano, S. Cardenas-Garcia, R. M. Gogal, C. L. Afonso // *Journal of Virological Methods*. – 2018. – Vol. 251. – P. 1-6.
156. Kapczynski, D. R. Protection of chickens against overt clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccines upon challenge with highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle disease outbreak / D. R. Kapczynski, D. J. King // *Vaccine*. – 2005. – Vol. 23. – № 26. – P. 3424-3433.

157. Kumar, R. Occurrence of newcastle disease in backyard poultry: A pathomorphological study / R. Kumar // *Indian Journal of Veterinary Pathology*. – 2022. – Vol. 46. – Occurrence of newcastle disease in backyard poultry. – № 4. – P. 339-341.
158. Making vaccines “on demand”: A potential solution for emerging pathogens and biodefense? / A. S. De Groot, L. Einck, L. Moise [et al.] // *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. – 2013. – Vol. 9. – Making vaccines “on demand”. – № 9. – P. 1877-1884.
159. Miller, P. J. Newcastle disease: Evolution of genotypes and the related diagnostic challenges / P. J. Miller, E. L. Decanini, C. L. Afonso // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2010. – Vol. 10. – Newcastle disease. – № 1. – P. 26-35.
160. mRNA Profiling and Transcriptomics Analysis of Chickens Received Newcastle Disease Virus Genotype II and Genotype VII Vaccines / P. Pandarangga, P. T. K. Doan, R. Tearle [et al.] // *Pathogens*. – 2024. – Vol. 13. – № 8. – P. 638.
161. Nagai, Y. Proteolytic cleavage of the viral glycoproteins and its significance for the virulence of Newcastle disease virus / Y. Nagai, H.-D. Klenk, R. Rott // *Virology*. – 1976. – Vol. 72. – № 2. – P. 494-508.
162. NDV subgenotype VII(L) is currently circulating in commercial broiler farms of Iran, 2017–2018 / A. Molouki, M. H. F. Mehrabadi, M. Bashashati [et al.] // *Tropical Animal Health and Production*. – 2019. – Vol. 51. – № 5. – P. 1247-1252.
163. Neuropathogenic Capacity of Lentogenic, Mesogenic, and Velogenic Newcastle Disease Virus Strains in Day-Old Chickens / V. M. B. D. Moura, L. Susta, S. Cardenas-Garcia [et al.] // *Veterinary Pathology*. – 2016. – Vol. 53. – № 1. – P. 53-64.
164. Newcastle Disease in Poultry - Poultry. – URL: <https://www.msdsvetmanual.com/poultry/newcastle-disease-and-other-paramyxovirus-infections/newcastle-disease-in-poultry> (date accessed: 10.12.2025). – Text : electronic.
165. Newcastle disease virus: Current status and our understanding / K. Ganar, M. Das, S. Sinha, S. Kumar // *Virus Research*. – 2014. – Vol. 184. – Newcastle disease virus. – P. 71-81.
166. Newcastle disease virus expressing H5 hemagglutinin gene protects chickens against Newcastle disease and avian influenza / J. Veits, D. Wiesner, W. Fuchs [et al.] //

Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2006. – Vol. 103. – № 21. – P. 8197-8202.

167. Newcastle Disease Virus Induced Pathologies Severely Affect the Exocrine and Endocrine Functions of the Pancreas in Chickens / Z. U. Rehman, S. Ren, S. L. Butt [et al.] // *Genes*. – 2021. – Vol. 12. – № 4. – P. 495.

168. Newcastle disease virus induces testicular damage and disrupts steroidogenesis in specific pathogen free roosters / Z. U. Rehman, S. Ren, B. Yang [et al.] // *Veterinary Research*. – 2020. – Vol. 51. – № 1. – P. 84.

169. Pathogenesis of Six Pigeon-Origin Isolates of Newcastle Disease Virus for Domestic Chickens / G. D. Kommers, D. J. King, B. S. Seal [et al.] // *Veterinary Pathology*. – 2002. – Vol. 39. – № 3. – P. 353-362.

170. Performance comparison of homologous and heterologous Newcastle disease virus in vaccines and antibody tests / P. Pandarangga, M. M. McAllister, A. E. Peaston [et al.] // *Research in Veterinary Science*. – 2022. – Vol. 149. – P. 82-89.

171. Phylogenetic Analysis of a Newcastle Disease Virus Strain Isolated from Domestic Poultry and Its Potential for Vaccine Development in the Republic of Kazakhstan / N. Akmyrzayev, S. Ryskeldinova, A. Mailybayeva [et al.] // *Vaccines*. – 2025. – Vol. 13. – № 5. – P. 440.

172. Phylogenetic Diversity among Low-Virulence Newcastle Disease Viruses from Waterfowl and Shorebirds and Comparison of Genotype Distributions to Those of Poultry-Origin Isolates / L. M. Kim, D. J. King, P. E. Curry [et al.] // *Journal of Virology*. – 2007. – Vol. 81. – № 22. – P. 12641-12653.

173. Phylogeny, pathogenicity and transmissibility of a genotype XII Newcastle disease virus in chicken and goose / B. Xiang, R. Chen, J. Liang [et al.] // *Transboundary and Emerging Diseases*. – 2020. – Vol. 67. – № 1. – P. 159-170.

174. Presence of Virulent Newcastle Disease Virus in Vaccinated Chickens in Farms in Pakistan / S. F. Rehmani, A. Wajid, T. Bibi [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2015. – Vol. 53. – № 5. – P. 1715-1718.

175. Prevalence of Newcastle Disease Antibodies in Local Chicken in Federal Capital Territory, Abuja, Nigeria / J. Abraham-Oyiguh, L. K. Sulaiman, C. A. Meseko [et al.] // International Scholarly Research Notices. – 2014. – Vol. 2014. – P. 1-3.
176. Protection conferred by commercial NDV live attenuated and double recombinant HVT vaccines against virulent California 2018 Newcastle disease virus (NDV) in chickens / H. L. Ferreira, A. M. Reilley, D. Goldenberg [et al.] // Vaccine. – 2020. – Vol. 38. – № 34. – P. 5507-5515.
177. Protective efficacy of the Newcastle disease virus genotype VII–matched vaccine in commercial layers / H. A. Sultan, S. Talaat, W. K. Elfeil [et al.] // Poultry Science. – 2020. – Vol. 99. – № 3. – P. 1275-1286.
178. Quantitative basic residue requirements in the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein as a determinant of virulence for Newcastle disease virus / R. L. Glickman, R. J. Syddall, R. M. Iorio [et al.] // Journal of Virology. – 1988. – Vol. 62. – № 1. – P. 354-356.
179. Recombinant Newcastle disease virus as a vaccine vector / Z. Huang, S. Elankumaran, A. Panda, S. Samal // Poultry Science. – 2003. – Vol. 82. – № 6. – P. 899-906.
180. Recombinant Newcastle Disease Virus-Vectored Vaccines Against Human and Animal Infectious Diseases / Z. Duan, H. Xu, X. Ji, J. Zhao // Future Microbiology. – 2015. – Vol. 10. – № 8. – P. 1307-1323.
181. Repeated isolation of virulent Newcastle disease viruses in poultry and captive non-poultry avian species in Pakistan from 2011 to 2016 / A. Wajid, K. M. Dimitrov, M. Wasim [et al.] // Preventive Veterinary Medicine. – 2017. – Vol. 142. – P. 1-6.
182. Role of Pigeons in the Transmission of Avian Avulavirus (Newcastle Disease-Genotype VIId) to Chickens / H. F. Ellakany, A. R. Elbestawy, H. S. Abd El-Hamid [et al.] // Animals. – 2019. – Vol. 9. – № 6. – P. 338.
183. Roy, P. Unexpected newcastle disease virus in day old commercial chicks and breeder hen / P. Roy, A. T. Venugopalan // Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases. – 2005. – Vol. 28. – № 4. – P. 277-285.

184. Sabouri, F. Characterization of a novel VIII sub-genotype of Newcastle disease virus circulating in Iran / F. Sabouri, M. Vasfi Marandi, M. Bashashati // *Avian Pathology*. – 2018. – Vol. 47. – № 1. – P. 90-99.
185. Takada, A. Protective immune response of chickens against Newcastle disease, induced by the intranasal vaccination with inactivated virus / A. Takada, H. Kida // *Veterinary Microbiology*. – 1996. – Vol. 50. – № 1-2. – P. 17-25.
186. Terregino, C. Clinical Traits and Pathology of Newcastle Disease Infection and Guidelines for Farm Visit and Differential Diagnosis / C. Terregino, I. Capua. – Text : electronic // *Avian Influenza and Newcastle Disease* / eds. I. Capua, D. J. Alexander. – Milano : Springer Milan, 2009. – P. 113-122. – URL: http://link.springer.com/10.1007/978-88-470-0826-7_9 (date accessed: 10.12.2025).
187. The Capacity of a Combined Liposomal Hepatitis B and C Vaccine to Stimulate Humoral and Cellular Responses in Mice / V. Khemka, D. See, J. See [et al.] // *Viral Immunology*. – 1998. – Vol. 11. – № 2. – P. 73-78.
188. The influence of liposomal adjuvant on intranasal vaccination of chickens against Newcastle disease / L.-P. Tseng, H.-J. Liang, M.-C. Deng [et al.] // *The Veterinary Journal*. – 2010. – Vol. 185. – № 2. – P. 204-210.
189. The occurrence of five major Newcastle disease virus genotypes (II, IV, V, VI and VIIb) in Bulgaria between 1959 and 1996 / A. Czeglédi, J. Herczeg, G. Hadjiev [et al.] // *Epidemiology and Infection*. – 2002. – Vol. 129. – № 3. – P. 679-688.
190. The pathogenesis of Newcastle disease: A comparison of selected Newcastle disease virus wild-type strains and their infectious clones / N. Wakamatsu, D. J. King, B. S. Seal [et al.] // *Virology*. – 2006. – Vol. 353. – The pathogenesis of Newcastle disease. – № 2. – P. 333-343.
191. The predominance of Newcastle disease virus genotype VII: genome diversity or poor cross-immunity of non-matched vaccines / S. Shahsavandi, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, M. M. Ebrahimi [et al.] // *Vaccine Research*. – 2021. – Vol. 8. – The predominance of Newcastle disease virus genotype VII. – № 2. – P. 4-16.

192. The VG/GA strain of Newcastle disease virus: mucosal immunity, protection against lethal challenge and molecular analysis / F. Perozo, P. Villegas, R. Dolz [et al.] // *Avian Pathology*. – 2008. – Vol. 37. – The VG/GA strain of Newcastle disease virus. – № 3. – P. 237-245.
193. The world of Newcastle disease vaccines / Ranjani Rajasekaran, J. Kirubaharan, V. Yadav [et al.]. – Text : electronic. – 2019. – URL: <https://www.researchgate.net/doi/10.13140/RG.2.2.27767.47529/1> (date accessed: 16.12.2025).
194. Unexpected Isolation of Virulent Newcastle Disease Virus from Commercial Embryonated Fowls' Eggs / I. Capua, M. Scacchia, T. Toscani, V. Caporale // *Journal of Veterinary Medicine, Series B*. – 1993. – Vol. 40. – № 1-10. – P. 609-612.
195. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus / K. M. Dimitrov, C. Abolnik, C. L. Afonso [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2019. – Vol. 74. – P. 103917.
196. Vaccine Quality Is a Key Factor to Determine Thermal Stability of Commercial Newcastle Disease (ND)Vaccines / N. Osman, D. Goovaerts, S. Sultan [et al.] // *Vaccines*. – 2021. – Vol. 9. – № 4. – P. 363.
197. Van Eck, J. H. H. An Ulster 2C strain-derived Newcastle disease vaccine: Vaccinal reaction in comparison with other lentogenic Newcastle disease vaccines / J. H. H. Van Eck, E. Goren // *Avian Pathology*. – 1991. – Vol. 20. – An Ulster 2C strain-derived Newcastle disease vaccine. – № 3. – P. 497-507.
198. Virulence of newcastle disease virus: what is known so far? / J. C. Dortmans, G. Koch, P. J. Rottier, B. P. Peeters // *Veterinary Research*. – 2011. – Vol. 42. – Virulence of newcastle disease virus. – № 1. – P. 122.
199. Zhang, D. Pathologic Mechanisms of the Newcastle Disease Virus / D. Zhang, Z. Ding, X. Xu // *Viruses*. – 2023. – Vol. 15. – № 4. – P. 864.
200. Alexander, D. J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses / D. J. Alexander // *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*. – 2000. – T. 19. – № 2. – C. 443-462.

201. Allan, W. H. Newcastle disease vaccines: their production and use : FAO animal production and health series. Newcastle disease vaccines / W. H. Allan, J. E. Lancaster, B. Toth. – Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1978. – Вып. 10. – 163 с.
202. Characterisation of genotype VII Newcastle disease virus (NDV) isolated from NDV vaccinated chickens, and the efficacy of LaSota and recombinant genotype VII vaccines against challenge with velogenic NDV / K. Roohani, S. W. Tan, S. K. Yearp [и др.] // Journal of Veterinary Science. – 2015. – Т. 16. – № 4. – С. 447-457.
203. Characterization of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus-1) isolated from pigeons / J. E. Pearson, D. A. Senne, D. J. Alexander [и др.] // Avian Diseases. – 1987. – Т. 31. – № 1. – С. 105-111.
204. Development and Evaluation of a Novel Chimeric Genotype VII Newcastle Disease Vaccine: Overcoming Maternal Antibody Interference and Spray Administration / X. Wang, Y. Yao, W. Yang [и др.] // Veterinary Sciences. – 2024. – Т. 11. – Development and Evaluation of a Novel Chimeric Genotype VII Newcastle Disease Vaccine. – № 11. – С. 532.
205. Geering, W. A. Exotic diseases of animals: a field guide for Australian veterinarians. Exotic diseases of animals / W. A. Geering, A. J. Forman, M. J. Nunn. – Canberra : Australian Government Publ, 1995. – 445 с.
206. Interactions between viscerotropic velogenic Newcastle diseases virus and pet birds of six species. I. Clinical and serologic responses, and viral excretion / G. A. Erickson, C. J. Maré, G. A. Gustafson [и др.] // Avian Diseases. – 1977. – Т. 21. – № 4. – С. 642-654.
207. Liljebjelke, K. A. Determination of minimum hemagglutinin units in an inactivated Newcastle disease virus vaccine for clinical protection of chickens from exotic Newcastle disease virus challenge / K. A. Liljebjelke, D. J. King, D. R. Kapczynski // Avian Diseases. – 2008. – Т. 52. – № 2. – С. 260-268.
208. Macpherson, L. W. Some Observations On The Epizootiology Of NewCastle Disease / L. W. Macpherson // Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science. – 1956. – Т. 20. – № 5. – С. 155-168.

209. Olesiuk, O. M. Influence of environmental factors on viability of Newcastle disease virus / O. M. Olesiuk // American Journal of Veterinary Research. – 1951. – Т. 12. – № 43. – С. 152-155.
210. Protection of chickens from Newcastle and Marek's diseases with a recombinant herpesvirus of turkeys vaccine expressing the Newcastle disease virus fusion protein / R. W. Morgan, J. Gelb, C. S. Schreurs [и др.] // Avian Diseases. – 1992. – Т. 36. – № 4. – С. 858-870.
211. Utterback, W. W. Epizootiology of velogenic viscerotropic Newcastle disease in southern California, 1971-1973 / W. W. Utterback, J. H. Schwartz // Journal of the American Veterinary Medical Association. – 1973. – Т. 163. – № 9. – С. 1080-1088.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

УЧЕТНЫЙ ЭКЗЕМПЛЯР №1

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

СОГЛАСОВАНО

Заместитель Руководителя
Федеральной службы по
ветеринарному и фитосанитарному
надзору

 К.А. САВЕНКОВ

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель руководителя службы
качества ФГБУ «ВНИИЗЖ»

 А.В. Константинов
« 05 » апреля 2024 г.

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

СТАНДАРТ ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ВАКЦИНА ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ
ИНАКТИВИРОВАННАЯ ЭМУЛЬСИОННАЯ

«ВНИИЗЖ-АвиНью Мульти»

Технические условия

СТО 00495527-0483-2024

Владимир - 2024



СТО 00495527-0483-2024

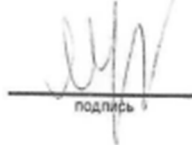
УЧЁТНЫЙ ЭКЗЕМПЛЯР № 1

ОКС 11.220

ОКПД2 21.20.21.136

Ключевые слова: вакцина, ньюкасская болезнь, грипп птиц H9N2, инактивированная, эмульсионная, стерильность, стабильность эмульсии, вязкость, полнота инактивации, безвредность, антигенная активность.

Руководитель разработки:

Зав. лабораторией профилактики
болезней птиц


подпись

Н.В. Мороз

Ответственный исполнитель:

Заведующий сектором инактивированных
вакцин
лаборатории профилактики
болезней птиц


подпись

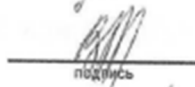
Д.Л. Долгов

Исполнители:

Младший научный сотрудник
лаборатории профилактики болезней
птиц


подпись

И.А. Комаров

Аспирант лаборатории
профилактики болезней птиц


подпись

М.А. Вершинина

Руководитель
Испытательной лаборатории
ветпрепаратов


подпись

Е.А. Яснева

Заведующий отделом
контроля качества
диагностических препаратов


подпись

С.К. Чугрова

Заведующий отделом контроля
качества вакцинных препаратов ИЛВ


подпись

Е.А. Константинова

Заместитель начальника отдела
управления качеством


подпись

М.Г. Суразева

Главный специалист отдела управления
качеством


подпись

А.С. Лобова



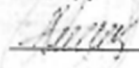
КОПИЯ 17
УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
ПРОХВАТКОВА Л. Б.

УЧЕБНЫЙ ЭКЗЕМПЛЯР № 1

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

СОГЛАСОВАНО

Заместитель Руководителя
Федеральной службы по
ветеринарному и фитосанитарному
надзору

 К.А. САВЧЕНКО
08 APR 2024

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель руководителя
службы качества ФГБУ «ВНИИЗЖ»

 А.В. Константинов
« 01 » марта 2024.

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

СТАНДАРТ ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ВАКЦИНА ПРОТИВ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ (G7 и ЛА-СОТА)
И ГРИППА ПТИЦ H9N2 (Y280 и G1) АССОЦИИРОВАННАЯ
ИНАКТИВИРОВАННАЯ ЭМУЛЬСИОННАЯ

«ВНИИЗЖ- АвиНьюФлу Мульти»

Технические условия

СТО 00495527-0468-2024



КОПИЯ ВЕРНА
УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
ПРОХВАТИЛОВА Л. Б.

Владимир - 2024

СТО 00495527-0468-2024

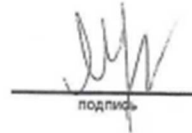
ОРИГИНАЛЬНЫЙ ЭКЗЕМПЛЯР № 1

ОКС 11.220

ОКПД2 21.20.21.136

Ключевые слова: вакцина, ньюкасская болезнь, грипп птиц H9N2, инактивированная, эмульсионная, стерильность, стабильность эмульсии, вязкость, полнота инактивации, безвредность, антигенная активность.

Руководитель разработки:

Зав. лабораторией профилактики
болезней птиц

подпись

Н.В. Мороз

Ответственный исполнитель:

Заведующий сектором инактивированных
вакцин
лаборатории профилактики
болезней птиц

подпись

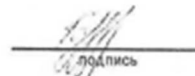
Д.Л. Долгов

Исполнители:

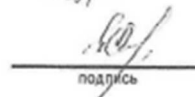
Младший научный сотрудник
лаборатории профилактики
болезней птиц

подпись

И.А. Комаров

Аспирант лаборатории
профилактики болезней птиц

подпись

М.А. Вершинина

Руководитель
Испытательной лаборатории
ветпрепаратов

подпись

Е.А. Яснева

Заведующий отделом
контроля качества
диагностических препаратов

подпись

С.К. Чугрова

Заведующий отделом контроля
качества вакцинных препаратов ИЛВ

подпись

Е.А. Константина

Заместитель начальника отдела
управления качеством

подпись

М.Г. Суrowцева

Главный специалист отдела управления
качеством

подпись

А.С. Лосева

18

КОПИЯ ВЕРНА
УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
ПРОХВАТИЛОВА Л. Б.



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ
№ 2821028

**Штамм "ВНИИЗЖ G7" вируса ньюкаслской болезни
птиц для изготовления биопрепаратов для диагностики
и специфической профилактики ньюкаслской болезни
птиц**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Федеральный центр охраны здоровья животных"
ФГБУ "ВНИИЗЖ" (RU)*

Авторы: *Мороз Наталья Владимировна (RU), Чвала Илья
Александрович (RU), Вершинина Мария Андреевна (RU), Долгов
Дмитрий Львович (RU), Ручнова Ольга Ивановна (RU), Гусева
Нелли Андреевна (RU), Комаров Илья Александрович (RU),
Андрейчук Дмитрий Борисович (RU)*

Заявка № 2024103509

Приоритет изобретения 13 февраля 2024 г.

Дата государственной регистрации
в Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 17 июня 2024 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 13 февраля 2044 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов



КОПИЯ ВЕРНА
УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) **RU** (11) **2 821 028** (13) **C1**
 (51) МПК
 C12N 7/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(52) СПК
 C12N 7/00 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2024103509, 13.02.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.02.2024

Дата регистрации:
17.06.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 13.02.2024

(45) Опубликовано: 17.06.2024 Бюл. № 17

Адрес для переписки:
600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ
ВНИИЗЖ, Ручнова Ольга Ивановна

(72) Автор(ы):

Мороз Наталья Владимировна (RU),
 Чвала Илья Александрович (RU),
 Вершинина Мария Андреевна (RU),
 Долгов Дмитрий Львович (RU),
 Ручнова Ольга Ивановна (RU),
 Гусева Нелли Андреевна (RU),
 Комаров Илья Александрович (RU),
 Андрейчук Дмитрий Борисович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
 учреждение "Федеральный центр охраны
 здоровья животных" ФГБУ "ВНИИЗЖ" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: UA 32180 U, 12.05.2008. RU 2192464
 C2, 10.11.2002. KZ 31530 B, 30.09.2016. KG 2212
 C1, 31.07.2020. RU 94015927 A1, 10.03.1997. RU
 2259844 C1, 10.09.2005. CN 107412762 A,
 01.12.2017. С.В. Фролов Эффективность вакцин
 против ньюкаслской болезни производства
 ФГБУ "ВНИИЗЖ"; в отношении актуальных
 вирусов VII генотипа, ВЕТЕРИНАРИЯ
 СЕГОДНЯ, МАРТ, N1 (см. прод.)

(54) Штамм "ВНИИЗЖ G7" вируса ньюкаслской болезни птиц для изготовления биопрепаратов для
 диагностики и специфической профилактики ньюкаслской болезни птиц

(57) Формула изобретения

Штамм «ВНИИЗЖ G7» вируса ньюкаслской болезни птиц семейства *Paramyxoviridae*
 рода *Orthoavulavirus* вида *Avian orthoavulavirus 1*, депонированный во Всероссийской
 государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов
 животных (ГКШМ) ФГБУ «ВНИИЗЖ», под регистрационным номером 436 деп
 /22-70 – ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ» для изготовления биопрепаратов для диагностики
 и специфической профилактики ньюкаслской болезни птиц.

(56) (продолжение):

(36) 2021 VETERINARY SCIENCE TODAY, MARCH, N1 (36) 2021, реферат.

Стр. 1

КОПИЯ
 УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРИЙ
 ПРОХВАТИЛОВА Л. Б.

RU
 2 821 028
 C 1

RU
 2 821 028
 C 1



Россельхознадзор

**федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)**

микрорайон Юрьевец, город Владимир, Владимирская область, Россия, 600901
тел.: (4922) 26-06-14, т./ф.: (4922) 26-38-77, e-mail: arriah@fsvps.gov.ru, сайт: www.arriah.ru
ОКПО: 00495527, ОГРН: 1023301283720, ИНН/КПП: 3327100048/332701001

« 29 » 04 2025 г.

**СПРАВКА № 789 - деп / 25 - 6
о депонировании штамма «ВНИИЗЖ-Saratov»
вируса ньюкаслской болезни генотипа VII-L для целей патентной
процедуры**

Форма депонирования: «Национальное патентное депонирование».

Авторы штамма: Н.В. Мороз, М.А. Вершинина, С.В. Фролов, Н.А. Гусева, О.И. Ручнова.

Депозитор: ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

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 личного подсобного хозяйства Саратовской области.

В результате проведения научно-исследовательской работы путем пассирования выделенного вируса на СПФ-эмбрионах кур методом предельных разведений из аллантоисной жидкости был получен штамм «ВНИИЗЖ-Saratov» вируса болезни Ньюкасла.

Штамм предложен в качестве диагностического.

Таксономия штамма вируса: отряд *Mononegavirales*, семейство *Paramyxoviridae*, подсемейство *Avulavirinae*, род *Orthoavulavirus*, вид *Avian orthoavulavirus 1*.

Депозитарий: Всероссийская государственная коллекция экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных (ГКШМ) ФГБУ «ВНИИЗЖ» (600901, Россия, Владимирская область, г. Владимир, мкр. Юрьевец).

Регистрационный номер: 789 - деп / 25 - 6 - ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Дата депонирования штамма:

29.04.2025

Срок хранения штамма в депозитари:

до 04.2035

Начальник службы безопасности ФГБУ «ВНИИЗЖ»

С.Б. Комолёв

И.о. руководителя Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ»

КОПИЯ ВЕРНА
УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
ПРОХВАТИЛОВА Л. Б.





Россельхознадзор

**федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)**

микрорайон Юрьевец, город Владимир, Владимирская область, Россия, 600901
тел.: (4922) 26-06-14, т./ф.: (4922) 26-38-77, e-mail: arriah@fsvps.gov.ru, сайт: www.arriah.ru
ОКПО: 00495527, ОГРН: 1023301283720, ИНН/КПП: 3327100048/332701001

**Всероссийская государственная коллекция экзотических типов вируса ящура
и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ»**

ПАСПОРТ № 789

**Посевного коллекционного материала диагностического
штамма «ВНИИЗЖ-Saratov» вируса ньюкаслской болезни генотипа VII-L
(пассаж №3 на СПФ-эмбрионах кур от 16.09.2024 г., лиофилизат от 23.09.2024 г.)**

Информация о штамме

1.	Информация депозитария	Депозитарий: Всероссийская государственная коллекция экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных (ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ»). Регистрационный номер: №789 - деп / 25 - 6 - ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ». Форма депонирования: «Национальное патентное депонирование». Дата депонирования: 29.04.2025г. Срок хранения штамма в депозитарии: до 04.2035 г.
2.	Таксономия вируса	Отряд <i>Mononegavirales</i> Семейство <i>Paramyxoviridae</i> Подсемейство <i>Avulavirinae</i> Род <i>Orthoavulavirus</i> Вид <i>Avian orthoavulavirus 1</i>
3.	Область использования штамма	Штамм предложен в качестве диагностического.
4.	Источник, метод, дата и место выделения	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 личного подсобного хозяйства Саратовской области. В результате проведения научно-исследовательской работы путем пассирования выделенного вируса на СПФ-эмбрионах кур методом предельных разведений из аллантоисной жидкости был получен штамм «ВНИИЗЖ-Saratov» вируса болезни Ньюкасла.
5.	Авторы штамма	Н.В. Мороз, М.А. Вершинина, С.В. Фролов, Н.А. Гусева, О.И. Ручнова.
6.	Депозитор	ФГБУ «ВНИИЗЖ» (600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец).

Информация о посевном материале штамма

1.	Пассажный уровень	3 пассаж в СПФ-эмбрионах кур от 16.09.2024г.
2.	Форма материала	лиофилизат от 23.09.2024г.
3.	Объем фасовки	2,0 см ³ во флаконе
4.	Объем серии	186 флаконов
5.	Количество первичных упаковок, передаваемых на хранение в депозитарий	10 флаконов
6.	Маркировка первичной упаковки	ФГБУ «ВНИИЗЖ» Вирус болезни Ньюкасла VII генотипа штамм «ВНИИЗЖ-Saratov» главный посевной материал пассаж на СПФ-эмбрионах кур от 16.09.2024 г. лиофилизат от 23.09.2024 г.

КОПИЯ ВЕРНА

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ

ПРОХВАТЛОВА Л. Б.

7.	Способ и условия для длительного хранения материала	Температура хранения материала не выше минус 40°C Срок хранения посевного материала составляет 5 лет. Контроль технологических показателей проводят согласно требованиям СТО 00495527-0326-2018
8.	Требования при транспортировке	Материал транспортируют в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21. Продолжительность транспортировки не более 8 ч при температуре не выше минус (20±2) °C.
9.	Средства дезинфекции, %, экспозиция	Растворы формалина (1-2%), этанола (70%), мирозид базик (0.5%), хлорамин Б (3,0%)

**Показатели качества посевного коллекционного материала
диагностического штамма «ВНИИЗЖ-Saratov» вируса ньюкаслской болезни генотипа VII-L
(пассаж №3 на СПФ-эмбрионах кур от 16.09.2024 г., лиофилизат от 23.09.2024 г.)
согласно требованиям СТО 00495527-0326-2018**

Наименование показателей	Результаты исследований
Внешний вид	сухая пористая однородная масса бежевого цвета
Наличие посторонних примесей, плесени, трещин флаконов, нарушение укупорки	отсутствует
Контаминация бактериями и грибами	отсутствует
Контаминация микоплазмами	отсутствует
Массовая доля влаги	3 %
Антигенная активность и специфичность	Титр антигена в РГА – 1:64
Генетическая идентификация штамма	штамм относится к отряду <i>Mononegavirales</i> , семейству <i>Paramyxoviridae</i> , роду <i>Orthoavulavirus</i> , виду <i>Avian orthoavulavirus 1</i>
Гемагглютинирующая активность в реакции торможения гемагглютинации (РТГА)	подавляется специфической сывороткой к парамиксовирусу птиц серотипа 1 (ПМВП-1)
Контаминация вирусами	отсутствует
Инфекционная активность в СПФ-эмбрионах кур	9,1 lg ЭИД ₅₀ /см ³
Величина 50%-летальной дозы на СПФ-циплятах	9,5 lg ЛД ₅₀ /см ³

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Посевной коллекционный материал штамма «ВНИИЗЖ-Saratov» вируса ньюкаслской болезни генотипа VII-L (пассаж №3 на СПФ-эмбрионах кур от 16.09.2024 г., лиофилизат от 23.09.2024 г.) соответствует требованиям СТО 00495527-0326-2018.
Дата планового контроля материала штамма: август 2029 г.

Начальник службы безопасности ФГБУ «ВНИИЗЖ»



С.Б. Комолеников
04 2025 г.

И.о. руководителя Всероссийской государственной коллекции экзотических типов вируса ящура и других патогенов животных ФГБУ «ВНИИЗЖ»

« 29 » 04 2025 г.
Д.Ю. Козлов

Заведующий лабораторией профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ»

« 29 » 04 2025 г.
Н.В. Мороз



КОПИЯ ВЕРНА
УЧЁНЫЙ СЕКРЕТАРЬ
ПРОХВАТКОВА Л. Г.