

Эффективность вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в отношении актуальных вирусов VII генотипа

С. В. Фролов¹, Н. В. Мороз², И. А. Чвала³, В. Н. Ирза⁴

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0001-6802-9940, e-mail: frolov@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9672-8594, e-mail: moroz@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-7489-1772, e-mail: irza@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В Российской Федерации в 2019 году произошло резкое обострение ситуации по ньюкаслской болезни птиц с распространением вируса субгенотипа VII-L по всей территории страны – от Приморского края до Курской области. В итоге зарегистрировано 17 неблагополучных пунктов, где содержалось невакцинированное поголовье в личных подсобных хозяйствах граждан. В данной работе оценивали иммуногенность вакцин производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», а также эффективность различных схем вакцинации для профилактики ньюкаслской болезни в отношении актуальных для Российской Федерации вирусов VII генотипа. Известно, что вирулентность циркулирующего в настоящее время возбудителя ньюкаслской болезни заметно возросла по сравнению с вирусами, выделенными в предыдущие годы, и он способен преодолевать поствакцинальный иммунитет, создаваемый живыми вакцинами. В результате исследований было установлено, что вакцины производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» обладают высокой иммуногенной активностью в отношении вирусов VII генотипа, что позволяет эффективно профилактировать эту болезнь при их использовании в составе стандартных схем вакцинации. Схема вакцинации с двукратным применением живой вакцины из штамма «Ла-Сота» формирует иммунитет у 100% цыплят, так же как и «полная» схема вакцинации с использованием инактивированных вакцин. Применение живых вакцин в схеме вакцинации с однократным и двукратным введением предотвращает гибель птиц и клиническое проявление болезни, однако не препятствует репликации вируса, в то время как добавление в схему иммунизации инактивированной вакцины предотвращает, кроме того, и репликацию вирулентного вируса. Таким образом, использование живых и инактивированных вакцин отечественного производства, прежде всего на основе штамма «Ла-Сота», с последующим контролем напряженности иммунитета и проведением ревакцинаций по показаниям является главным инструментом в борьбе с заболеванием.

Ключевые слова: Вирулентный вирус ньюкаслской болезни VII генотипа, вакцины против ньюкаслской болезни, эффективность вакцин против ньюкаслской болезни.

Благодарность: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Фролов С. В., Мороз Н. В., Чвала И. А., Ирза В. Н. Эффективность вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в отношении актуальных вирусов VII генотипа. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 44–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-44-51.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Фролов Сергей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьево, e-mail: frolov@arriah.ru.

UDC 619:616.98:578.831.11:615.371

Effectiveness of vaccines produced by the Federal State-Financed Institution “ARRIAH” against topical genotype VII Newcastle disease viruses

S. V. Frolov¹, N. V. Moroz², I. A. Chvala³, V. N. Irza⁴

FGBI “Federal Centre for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0001-6802-9940, e-mail: frolov@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9672-8594, e-mail: moroz@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-7489-1772, e-mail: irza@arriah.ru

SUMMARY

In 2019, the situation regarding Newcastle disease in the Russian Federation worsened radically due to the spread of NDV subgenotype VII-L throughout the country from the Primorsky Krai to the Kursk Oblast. As a result, 17 infected settlements with backyard farms where unvaccinated poultry was kept were registered. In this study, immunogenicity of the vaccines produced by the FGBI "ARRIAH", as well as the effectiveness of various vaccination schedules to prevent genotype VII NDVs, relevant for the Russian Federation, was studied. It is known that the currently circulating ND agent is significantly more virulent compared to the viruses isolated in previous years, and it is able to bypass the immunity provided by live vaccines. Test results demonstrated that the vaccines against genotype VII NDVs produced by the FGBI "ARRIAH" are highly immunogenic, which allows to effectively prevent the disease when using them as part of a standard vaccination schedule. A 2-dose vaccination schedule using live vaccine from the La Sota strain as well as the "complete" vaccination schedule using inactivated vaccines provides immunity in 100% of chicks. The use of live vaccines in a single- and double-dose vaccination schedules prevents mortality and clinical disease in poultry, but does not prevent virus replication, while the addition of an inactivated vaccine to the immunization schedule does prevent the replication of the virulent virus. Thus, the use of domestically produced live and inactivated vaccines, primarily the ones containing the La Sota strain, with the following control of the immunity level and booster vaccination, if required, is the main tool for the disease control.

Keywords: Virulent genotype VII Newcastle disease virus, ND vaccines, effectiveness of ND vaccines.

Acknowledgements: The study was funded by the FGBI "ARRIAH" within the framework of "Veterinary Welfare" research work.

For citation: Frolov S. V., Moroz N. V., Chvala I. A., Irza V. N. Effectiveness of vaccines produced by the Federal State-Financed Institution "ARRIAH" against topical genotype VII Newcastle disease viruses. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 44–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-44-51.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Sergey V. Frolov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: frolov@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Ньюкаслская болезнь (НБ) – высококонтагиозное вирусное заболевание птиц, главным образом куриных, характеризующееся поражением органов дыхательного и пищеварительного трактов, центральной нервной системы. Заболевание регистрируется во всем мире, оно включено в список notiфицируемых болезней Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), так как наносит колоссальный экономический ущерб и препятствует международной торговле [1–3].

К настоящему времени определены 9 генотипов вирусов класса 1 (авирулентные штаммы) и не менее 10 – из класса 2 (вакцинные и вирулентные штаммы). Это самая разнообразная и постоянно эволюционирующая группа вирусов. Вирулентные вирусы рода *Avian orthoavulavirus 1* (AOAV-1), известные ранее как *Avian avulavirus 1*, *Avian paramyxovirus 1*, или вирусы ньюкаслской болезни (ВНБ), способны заражать и вызывать заболевание у широкого спектра видов домашних и диких птиц во всем мире. *Avian orthoavulavirus 1* также обладает высокой изменчивостью. В настоящее время классификация AOAV-1 включает 2 класса, более 20 генотипов, часть из которых разбито дополнительно примерно на 30 подтипов. В последние десятилетия наиболее актуальными для птицеводства являются: генотип VII, широко распространенный в странах Старого Света, и генотип V (включая вновь выделенный генотип XIX), циркулирующий в странах Америки.

Появление новых вирулентных штаммов генотипов класса 2, вызывающих эпизоотии, связано с тем, что вирусы разных генотипов одновременно развиваются в различных географических зонах по всему миру, чему способствует большое видовое разнообразие птиц, восприимчивых к НБ [1, 4]. Эпизоотии НБ во мно-

гих странах Азии и Европы за последние 20 лет были вызваны вирусами разных подтипов VII генотипа [1–3]. Две линии генотипа VII класса 2 (ранее названные субгенотипами VIIh и VIIi) были выявлены в Индонезии в 2010 г. [5]. В течение следующих нескольких лет первая из них проникла в Малайзию [6], Китай [7], ряд стран Южной Африки [8] и Россию (NDV/chicken/Kaliningrad/184/2013). Второй субгенотип был выявлен в Пакистане [9], Индии [10], Израиле [11], Ливии [12], Турции, Грузии и Болгарии [13].

В Российской Федерации вирус данного генотипа впервые вызвал вспышку болезни на птицефабрике в Амурской области в 2006 г. и используется в настоящее время как штамм контрольного заражения [14]. В последующие годы ВНБ VII генотипа был причиной спорадических вспышек среди домашних птиц личных подсобных хозяйств (ЛПХ) в разных регионах страны. Вспышки НБ, вызванные вирусами субгенотипа VIIi, впервые были зарегистрированы в Республике Крым в конце 2015 г. и продолжались весь 2016 г., что на тот период времени являлось самой крупной и продолжительной эпизоотией болезни среди сельскохозяйственных птиц в России за несколько последних десятилетий (21 неблагополучный пункт). Это вполне оправдывает характеристику обеих групп как обладающих панзоотическим потенциалом [15]. Интересно отметить, что имеющие наибольшее сходство геномов с изолятами данных групп вирусы выявлялись либо не ранее середины 90-х гг. в странах Дальнего Востока и Юго-Восточной Азии, либо спорадически на островах Индонезии. Это позволяет предполагать существование в тропической зоне Юго-Восточной Азии постоянного резервуара вируса, в котором формируются и откуда периодически проникают вовне новые формы вирулентного AOAV-1.

В Российской Федерации в 2019 г. произошло резкое обострение ситуации по НБ с распространением вируса субгенотипа VII-L (по новой классификации – VII 1.1 [16]) по всей территории страны – от Приморского края до Курской области. В итоге зарегистрировано 17 неблагополучных пунктов, все – в ЛПХ, где содержалось невакцинированное поголовье.

Вирус субгенотипа VII-L является наиболее близким к группе изолятов из Ирана, получившей название подтипа VII-L [17]. Иранскими учеными были показаны высокое сходство изолятов между собой, их принадлежность генотипу VII, соответствие критериям выделения нового субгенотипа, а также филогенетическая близость к известным ранее и широко распространенным вирусам субгенотипа VIId. Эти же авторы [17] в дальнейшем значительно увеличили число изученных изолятов данной группы, показали их распространение практически по всем провинциям Ирана, а также отметили, что сходством с данной группой обладает частичная последовательность гена F изолята, выделенного в стране еще в 1999 г. F. Sabouri et al. [18], а также Molouki A. et al. [19] показали широкое распространение вирусов подтипа VII-L как в мелких крестьянских хозяйствах, так и на коммерческих птицефабриках. Появление новой сублинии ВНБ генотипа VII в указанном регионе показывает опасность подобных процессов и в других местах, поскольку вирусы субгенотипа VIId являются эндемичными во многих странах Евразии и Африки, а также были отмечены и в Южной Америке [20].

Зарегистрированных случаев НБ данного субгенотипа в промышленном птицеводстве России не было.

В большинстве стран, в том числе в Российской Федерации, вакцинация промышленного поголовья птиц против НБ является обязательной [1, 4, 21]. Сроки первичной иммунизации устанавливают исходя из уровня материнских антител. Как правило, через 14–21 сутки после первой вакцинации сыворотки крови исследуют в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Иммунизация считается успешной, если не менее чем у 80% привитой птицы титр антител будет не ниже $3 \log_2$ [22]. При использовании инактивированных вакцин титр антител должен быть не ниже $5 \log_2$ [23].

Недостаточный и неоднородный уровень специфических антител в условиях плановой вакцинации может быть связан с применением неадекватного в конкретной эпизоотической ситуации вакцинного штамма, недоставлением дозы, технологическими пропусками, применением живых вакцин в период высокой концентрации материнских антител и прочими причинами.

Обострение эпизоотической ситуации в 2019 г. и распространение ВНБ генотипа VII по всей территории РФ послужили основанием для проведения экспериментов с заражением птиц актуальными вирусами указанного генотипа с целью оценки протективной активности живых и инактивированных вакцин из штамма «Ла-Сота» производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир, Россия) при разных схемах применения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вакцины. В испытаниях были использованы следующие вакцины против НБ (живые и инактивированные) производства ФГБУ «ВНИИЗЖ»:

– вакцина против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота» сухая живая, серия 140520 (дата выпуска 05.2020);

– вакцина ассоциированная против ньюкаслской болезни птиц, инфекционного бронхита кур и синдрома снижения яйценоскости-76 инактивированная эмульгированная, серия 010320 (дата выпуска 03.2020).

Вирусы. Для контрольного заражения в экспериментах были использованы три актуальных для Российской Федерации вируса НБ VII генотипа: NDV/chicken/Rus/Crimea/54/17, NDV/chicken/Rus/Krasnodar/9/19, NDV/chicken/Rus/Kaliningrad/184/13, которым в дальнейшем описании присвоили следующие условные обозначения: «Крым», «Краснодар» и «Калининград» соответственно.

Экспериментальные животные. В опытах были использованы цыплята яичного направления продуктивности в возрасте 2–3 недель, свободные от антител к вирусу НБ, полученные из благополучного по инфекционным болезням птицеводства.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014, принятым Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Схема опыта. Было сформировано 4 опытных группы цыплят методом случайной выборки. Группа № 1 (30 гол.) привита однократно живой вакциной против НБ из штамма «Ла-Сота». Группа № 2 (30 гол.) вакцинирована двукратно живой вакциной против НБ из штамма «Ла-Сота», повторную иммунизацию при этом проводили через 28 дней после первой. Цыплят группы № 3 (30 гол.) прививали двукратно с интервалом в 28 дней живой вакциной против НБ и далее через 21 день – однократно инактивированной вакциной против НБ. Группа № 4 (90 гол.) служила в качестве отрицательного контроля и состояла из невакцинированных цыплят.

Используемые в опыте схемы вакцинации получили следующие условные обозначения: 1ЖВ – однократная иммунизация живой вакциной; 2ЖВ – двукратная иммунизация живой вакциной; 2ЖВ+1ИВ – двукратная иммунизация живой вакциной и однократная – инактивированной.

При этом живые вакцины применяли интраназальным методом в дозе $6,7 \lg \text{ЭИД}_{50}$, что соответствует одной иммунизирующей дозе для вакцины против НБ из штамма «Ла-Сота» производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», а инактивированную вводили внутримышечно в одной иммунизирующей дозе в объеме 0,5 мл.

Контроль иммуногенности вакцины. Иммуногенность вакцин оценивали по результатам контрольного заражения цыплят, а также по результатам серологических исследований.

Контрольное заражение цыплят проводили в соответствии с Руководством МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных [24]. Цыплят из разных опытных групп подвергали заражению вирулентными вирусами НБ VII генотипа. Заражающие дозы вирулентных вирусов составили следующие значения: $5,9 \lg \text{ЭИД}_{50}$ – для NDV/chicken/Rus/Kaliningrad/184/13; $6,6 \lg \text{ЭИД}_{50}$ – для NDV/chicken/Rus/Crimea/54/17; $6,9 \lg \text{ЭИД}_{50}$ – для NDV/chicken/Rus/Krasnodar/9/19. Цыплят заражали внутримышечно в объеме 0,5 мл

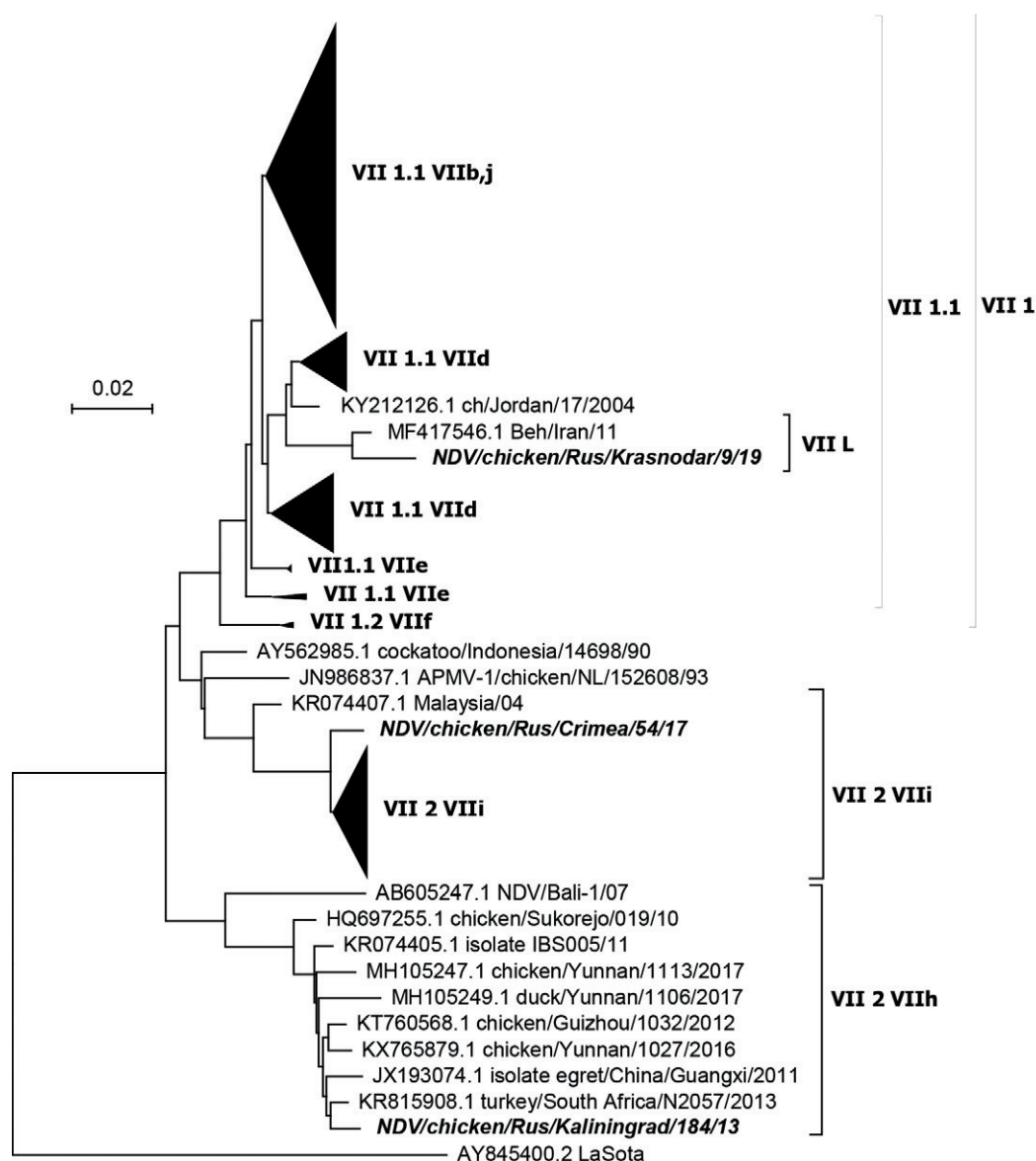


Рис. 1. Филогенетическое положение изолятов генотипа VII, вызвавших в России вспышки НБ в последние годы. Дендрограмма получена для полных последовательностей ОРС гена F 3 российских и 304 ранее опубликованных штаммов и изолятов с помощью программы NJ пакета MEGA 6.0. Российские изоляты выделены жирным шрифтом и курсивом. Справа приведены названия филогенетических групп по D. G. Diel et al. [25] (римские цифры и латинские буквы) и по K. M. Dimitrov et al. [16] (римские и арабские цифры). Филогенетические группы, не содержащие изучаемых изолятов, для удобства показаны в свернутом виде

Fig. 1. Phylogenetic position of genotype VII isolates that have caused ND outbreaks in Russia in recent years. The dendrogram for complete F gene ORF sequences of 3 Russian and 304 previously published strains and isolates was obtained using the NJ program, MEGA 6.0 package. Russian isolates are shown in bold and italics. On the right are the names of phylogenetic groups according to D. G. Diel et al. [25] (Roman numerals and Latin letters) and K. M. Dimitrov et al. [16] (Roman and Arabic numerals). Phylogenetic groups that do not contain the studied isolates are shown in a contracted form for convenience

и вели наблюдение за ними в течение 7–8 дней. При этом каждый раз формировали методом случайной выборки по 6 опытных групп цыплят (по 10 гол.), которых подвергали заражению:

группа № 1 – иммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Crimea/54/17;

группа № 2 – иммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Krasnodar/9/19;

группа № 3 – иммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Kaliningrad/184/13;

группа № 4 – неиммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Crimea/54/17;

группа № 5 – неиммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Krasnodar/9/19;

группа № 6 – неиммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Kaliningrad/184/13.

Контрольное заражение проводили через 21–28 дней после каждой вакцинации.

Для серологических исследований от цыплят разных опытных групп отбирали кровь, получали

Таблица 1

Результаты контрольного заражения цыплят, иммунизированных с применением различных схем вакцинации

Table 1

Results of the challenge in chickens immunized following different vaccination schedules

Схема вакцинации	Вирулентный штамм вируса НБ			Эффективность вакцинации, % $M \pm m (n = 3)$
	«Крым»	«Краснодар»	«Калининград»	
1ЖВ	2/10*	6/10	0/10	73 ± 18
2ЖВ	0/10	0/10	0/10	100
2ЖВ+1ИВ	0/10	0/10	0/10	100
контроль	10/10 ($n = 3$)	10/10 ($n = 3$)	10/10 ($n = 3$)	0

* Отношение павших к общему количеству зараженных цыплят (The ratio of the dead to the total number of infected chickens).

сыворотки и исследовали в РТГА с помощью набора для выявления антител к вирусу ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации производства ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Кратность обора проб была следующей: до вакцинации и перед каждым контрольным заражением, а также через 7–8 дней после заражения от выживших цыплят.

Нуклеотидные последовательности генов вирулентных вирусов НБ, используемых для контрольного заражения. На рисунке 1 представлены нуклеотидные последовательности изолятов и штаммов ВНБ, охарактеризованные в ФГБУ «ВНИИЗЖ» или опубликованные в базах данных GenBank электронного ресурса NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/) и GISAID EpiFlu (<https://www.gisaid.org/>).

Анализ нуклеотидных и соответствующих им аминокислотных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit, версия 7.0.5.3. Выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы множественного выравнивания ClustalW. Построение филогенетического дерева проводили с помощью алгоритма NJ в реализации пакета MEGA, версия 6.0.

Анализ результатов исследований. Иммуногенность вакцин и эффективность использованных схем иммунизации оценивали по показателю «эффективность вакцинации», а также по результатам серологических исследований.

Расчет показателя «эффективность вакцинации» (Э) проводили по формуле:

$$\text{Э} = (n - n_i) / n \times 100\%,$$

где n_i – число павших цыплят в группе, n – общее число цыплят в группе.

Для характеристики патогенного действия вирулентных вирусов НБ использовали показатель летальности, рассчитанный для группы однократно вакцинированных живой вакциной цыплят. Данный показатель представляет собой отношение числа павших от данной болезни к числу восприимчивых животных, выраженное в процентах.

Расчет показателя летальности (Л) вычисляли по формуле:

$$\text{Л} = n_i / n \times 100\%,$$

где n_i – число павших цыплят в группе, n – общее число цыплят в группе.

При статистической обработке вычисляли средние значения показателей эффективности вакцинации, летальности, титров антител, стандартные ошибки средних и проводили сравнение для доверительной вероятности 95%, используя t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Иммуногенность вакцин и применяемые в эксперименте схемы вакцинации против НБ оценивали по устойчивости к контрольному заражению вирулентными вирусами НБ, а также по результатам серологических исследований.

В таблице 1 представлены обобщенные результаты устойчивости вакцинированных цыплят к контрольному заражению вирулентными вирусами НБ, из которой следует, что эффективность однократной вакцинации в группах варьировалась от 40 до 100% и в среднем составила 73%. Наибольшая эффективность однократной вакцинации была продемонстрирована в отношении вируса «Калининград» (выжило 10 из 10 гол. цыплят), а наименьшая – в отношении вируса «Краснодар» (выжило 4 из 10 гол. цыплят).

Также из приведенных в таблице 1 данных следует, что эффективность вакцинации варьировала от 73 до 100% в зависимости от используемой схемы. Наименьшая эффективность была получена после однократного применения живой вакцины и максимальная – после двукратного введения живой вакцины и дополнительно инактивированной.

При этом во всех невакцинированных контрольных группах при проведении трех этапов испытаний наблюдали 100%-ю гибель цыплят в интервале времени от 3 до 7 суток после заражения.

На рисунке 2 в графическом виде представлены результаты определения летальности цыплят в группе 1ЖВ после заражения вирусами НБ генотипа VII. Судя по графику, а также на основании уравнения регрессии и коэффициента детерминации $R = 0,84$, или 84%, установлена высокая степень зависимости летальности от заражающей дозы.

На рисунке 3 в графическом виде представлено распределение титров антител к вирусу НБ в группах цыплят соответственно схемами вакцинации. Из графика следует, что схема вакцинации 2ЖВ+1ИВ приводила к формированию высоких титров антител со средним значением $11,9 \log_2$. При других схемах, когда птицу

вакцинировали живой вакциной однократно и двукратно, средние значения титров антител составили 5,2 и 4,8 \log_2 соответственно.

В таблице 2 представлены результаты серологических исследований по выявлению титров антител в РТГА к вирусу НБ в крови цыплят после вакцинации с применением различных схем, а также после контрольного заражения.

Из данных таблицы 2 следует, что титры антител после однократной ($5,2 \pm 0,3 \log_2$) и двукратной ($4,8 \pm 0,2 \log_2$) прививки были практически одинаковыми, т. к. не имели статистических различий ($P > 0,05$). Вакцинация цыплят инактивированной вакциной привела к значительному (статистически значимому) приросту титров антител ($P < 0,001$).

После контрольного заражения титры антител у цыплят в группах 1ЖВ и 2ЖВ значительно возросли и превышали первоначальное значение в 48 и 119 раз соответственно, а в группе 2ЖВ+1ИВ были сравнимы с титрами антител до заражения – $11,9 \log_2$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Однократная прививка цыплят живой вакциной производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» вызывала образование высоких титров гуморальных антител, которые были сравнимы с титрами антител после двукратной вакцинации. Однако эффективность однократной вакцинации была наименьшей и составляла 73%, тогда как после двукратной вакцинации живой вакциной и дополнительно инактивированной эффективность была наибольшей и составила 100% по отношению к вирусным вирусам НБ генотипа VII.

Необходимо отметить, что патогенность вирусов генотипа VII зависела от заражающей дозы, причем это было характерно для цыплят, которых вакцинировали однократно живой вакциной. В дальнейшем при характеристике эффективности схем вакцинации 2ЖВ и 2ЖВ+1ИВ такая зависимость нивелировалась. Также необходимо отметить, что в природе такая концентрация вируса (около $5,9 \lg \text{ЭИД}_{50}$ или $\sim 1\,000\,000$ вирусных частиц) при заражении практически не встречается, поэтому с большой долей вероятности можно предположить, что однократная вакцинация живой вакциной из штамма «Ла-Сота» защитит птицу от заражения вирусным вирусом НБ VII генотипа.

По-видимому, двукратная иммунизация живой и дополнительно инактивированной вакциной

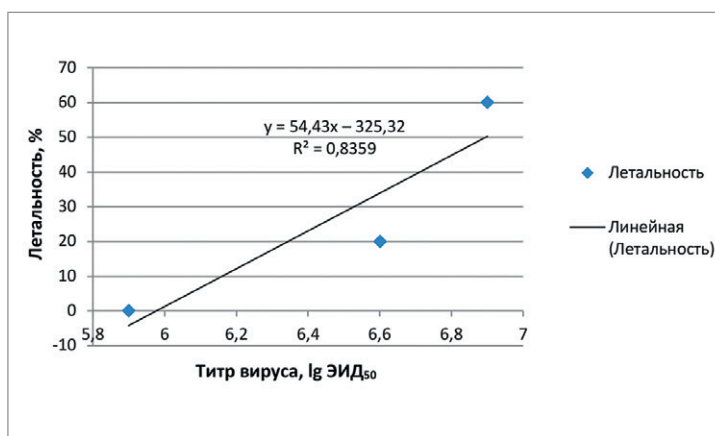


Рис. 2. Влияние заражающей дозы на показатель летальности однократно вакцинированных цыплят

Fig. 2. Relationship between the infectious dose and the mortality rate in single-dose vaccinated chickens

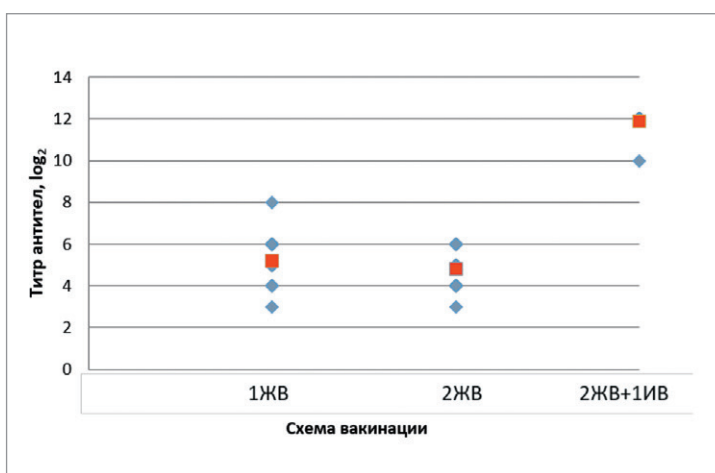


Рис. 3. Распределение титров антител по группам, соответственно примененным схемам вакцинации. Красными маркерами выделены средние значения соответствующих вариационных рядов

Fig. 3. Distribution of antibody titers by groups, according to the vaccination schedules used. The red markers indicate the average values of the corresponding set of variate values

Таблица 2

Серологический ответ цыплят на иммунизацию с использованием различных схем вакцинации против НБ

Table 2

Serological response in chickens to vaccination following different ND vaccination schedules

Схема вакцинации	Титр антител (\log_2) на разных сроках взятия крови		
	0 д/в	21–28 п/в	7–8 п/кз
1ЖВ	$3,2 \pm 0,6$	$5,2 \pm 0,3$	$10,8 \pm 0,3$
2ЖВ		$4,8 \pm 0,2$	$11,7 \pm 0,1$
2ЖВ+1ИВ		$11,9 \pm 0,1$	$11,9 \pm 0,1$

д/в – дней до вакцинации (days before vaccination), п/в – дней после вакцинации (days post vaccination), п/кз – дней после контрольного заражения (days post challenge).

вызывает формирование более напряженного и специфического иммунитета, представленного главным образом «поздним» иммуноглобулином G, который более эффективен в отношении вирулентных вирусов НБ. Тем не менее иммунизация птицы живыми вакцинами полностью не предотвращала репродукцию вирулентного вируса, о чем свидетельствует повышение титров гуморальных антител в 50–100 раз через 7–8 дней после заражения.

Так называемая полная схема вакцинации, с использованием живых и инактивированных вакцин, вызывала образование высоких титров гуморальных антител, предотвращала репродукцию вирулентного вируса и вызывала 100%-ю протективную защиту от заражения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было установлено, что вакцины против НБ эффективны для профилактики ньюкаслской болезни, вызываемой вирулентным вирусом VII генотипа, при использовании в определенной схеме вакцинации. Так, схема вакцинации, предусматривающая двукратное использование живых вакцин, предотвращала гибель птиц и клиническое проявление болезни, однако не препятствовала репликации вируса. В то время как схема вакцинации с использованием живых и инактивированных вакцин предотвращала гибель, развитие клинических признаков болезни и репликацию вирулентного вируса.

Следовательно, вакцины против НБ производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» обладают высокой иммуногенной активностью для профилактики заболевания, вызываемого вирусом НБ VII генотипа.

Полученные данные свидетельствуют о том, что вирулентность циркулирующего в настоящее время возбудителя НБ заметно возросла по сравнению с вирусами, выделенными в предыдущие годы, и он способен преодолевать поствакцинальный иммунитет, создаваемый живыми вакцинами. Поэтому применение актуальных отечественных живых и инактивированных вакцин, прежде всего на основе штамма «Ла-Сота», с последующим контролем напряженности иммунитета и проведением ревакцинаций по показаниям будет главным инструментом в борьбе с заболеванием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 1–13, 15–20, 24, 25 см. REFERENCES)

14. Сарбасов А. Б., Ирза В. Н., Репин П. И., Старов С. К., Фролов С. В. Протективные свойства вакцины из штамма «Ла-Сота» при заражении цыплят вирулентным штаммом VII генотипа вируса ньюкаслской болезни. *Ветеринария*. 2015; 2: 28–31. eLIBRARY ID: 23016019.
21. Инструкция о мероприятиях по борьбе с ньюкаслской болезнью (псевдочумой) птиц: утв. ГВУ МСХ СССР 09.06.1976 (с изменениями и дополнениями от 28.08.1978). Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/560851920>.
22. Инструкция по ветеринарному применению вакцины против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота» сухой живой: утв. Россельхознадзором 30.03.2020. Режим доступа: http://www.arriah.ru/sites/default/files/instrukciya_la_sota.pdf.
23. Инструкция по ветеринарному применению вакцины ассоциированной против ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита кур и синдрома снижения яйценоскости-76 инактивированной эмульгированной: утв. Россельхознадзором 01.06.2018. Режим доступа: http://www.arriah.ru/sites/default/files/instrukciya_ssyaiibkn_ot_01.06.18.pdf.

REFERENCES

1. Alexander D. J., Aldous E. W., Fuller C. M. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle diseases research. *Avian Pathol.* 2012; 41 (4): 329–335. DOI: 10.1080/03079457.2012.697991.

2. OIE. World Animal Health Information Database (WAHIS) Interface. Available at: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryin-formation/Reporting; https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasetimeline.

3. OIE. Weekly Disease Information. Available at: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI.

4. Dimitrov K. M., Afonso C. L., Yu Q., Miller P. J. Newcastle disease vaccines – A solved problem or a continuous challenge? *Vet. Microbiol.* 2017; 206: 126–136. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.12.019.

5. Xiao S., Nayak B., Samuel A., Paldurai A., Kanabagattebasavarajappa M., Prajitno T. Y., et al. Generation by reverse genetics of an effective, stable, live-attenuated Newcastle disease virus vaccine based on a currently circulating, highly virulent Indonesian strain. *PLoS One*. 2012; 7 (12):e52751. DOI: 10.1371/journal.pone.0052751.

6. Habib M., Yaqub T., Nazir J., Shehzad W., Aziz-ul-Rahman, Sohail T., et al. Genomic and biological characterization of Newcastle disease viruses isolated from migratory mallards (*Anas platyrhynchos*). *Arch. Virol.* 2018; 163 (8): 2179–2188. DOI: 10.1007/s00705-018-3840-8.

7. Liu Y., Sun C., Chi M., Wen H., Zhao L., Song Y., et al. Genetic characterization and phylogenetic analysis of Newcastle disease virus from China. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 75:103958. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.103958.

8. Abolnik C. History of Newcastle disease in South Africa. *Onderstepoort. J. Vet. Res.* 2017; 84 (1):e1–e7. DOI: 10.4102/ojvr.v84i1.1306.

9. Wajid A., Wasim M., Rehmani S. F., Bibi T., Ahmed N., Afonso C. L. Complete genome sequence of a recent panzootic virulent Newcastle disease virus from Pakistan. *Genome Announc.* 2015; 3 (3):e00658-15. DOI: 10.1128/genomeA.00658-15.

10. Desingu P. A., Dhama K., Malik Y. S., Singh R. K. May newly defined genotypes XVII and XVIII of Newcastle disease virus in poultry from West and Central Africa be considered a single genotype (XVII)? *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54 (9):2399. DOI: 10.1128/JCM.00667-16.

11. Pandarangga P., Brown C. C., Miller P. J., Haddas R., Rehmani S. F., Afonso C. L., Susta L. Pathogenesis of new strains of Newcastle disease virus from Israel and Pakistan. *Vet. Pathol.* 2016; 53 (4): 792–796. DOI: 10.1177/0300985815622972.

12. Kammon A., Heidari A., Dayhum A., Eldaghayes I., Sharif M., Monne I., et al. Characterization of avian influenza and Newcastle disease viruses from poultry in Libya. *Avian Dis.* 2015; 59 (3): 422–430. DOI: 10.1637/11068-032215-ResNote.1.

13. Fuller C., Löndt B., Dimitrov K. M., Lewis N., van Boheemen S., Fouchier R., et al. An epizootiological report of the re-emergence and spread of a lineage of virulent Newcastle disease virus into Eastern Europe. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (3): 1001–1007. DOI: 10.1111/tbed.12455.

14. Sarbasov A. B., Irsa V. N., Repin P. I., Starov S. K., Frolov S. V. The study of protective properties of the vaccine strain “La Sota” when infected chickens virulent strain of the genotype VII of the virus Newcastle disease. *Veterinariya*. 2015; 2: 28–31. eLIBRARY ID: 23016019. (in Russian)

15. Miller P. J., Haddas R., Simanov L., Lublin A., Rehmani S. F., Wajid A., et al. Identification of new sub-genotypes of virulent Newcastle disease virus with potential panzootic features. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 29: 216–229. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.10.032.

16. Dimitrov K. M., Abolnik C., Afonso C. L., Albina E., Bahl J., Berg M., et al. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 74:103917. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.103917.

17. Esmaelizad M., Mayahi V., Pashaei M., Goudarzi H. Identification of novel Newcastle disease virus sub-genotype VII-(j) based on the fusion protein. *Arch. Virol.* 2017; 162 (4): 971–978. DOI: 10.1007/s00705-016-3189-9.

18. Sabouri F., Vasfi Marandi M., Bashashati M. Characterization of a novel VIII sub-genotype of Newcastle disease virus circulating in Iran. *Avian Pathol.* 2018; 47 (1): 90–99. DOI: 10.1080/03079457.2017.1376735.

19. Molouki A., Mehrabadi M. H. F., Bashashati M., Akhijahani M. M., Lim S. H. E., Hajloo S. A. NDV subgenotype VIII(L) is currently circulating in commercial broiler farms of Iran, 2017–2018. *Trop. Anim. Health Prod.* 2019; 51 (5): 1247–1252. DOI: 10.1007/s11250-019-01817-1.

20. Dimitrov K. M., Ramey A. M., Qiu X., Bahl J., Afonso C. L. Temporal, geographic, and host distribution of avian paramyxovirus 1 (Newcastle disease virus). *Infect. Genet. Evol.* 2016; 39: 22–34. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.01.008.

21. Instructions for Newcastle disease control [Instrukciya o meropriyatiyah po bor'be s n'yukaslskoj bolezn'yu (psevdochumoj) ptic]: Approved by the Chief Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of the USSR on 09.06.1976 (amended on 28.08.1978). Available at: <http://docs.cntd.ru/document/560851920>. (in Russian)

22. Instructions for the veterinary use of Live dry vaccine against Newcastle disease from “La Sota” strain [Instrukciya po veterinarnomu primeniyu vakciny protiv n'yukaslskoj bolezn'i iz shtamma «La-Sota» suhoj]

zhivoj]: Approved by the Rosselkhoz nadzor 30.03.2020. Available at: http://www.arriah.ru/sites/default/files/instrukciya_la_sota.pdf. (in Russian)

23. Instructions for veterinary use of the combined inactivated emulsion vaccine against Newcastle disease, avian infectious bronchitis and egg drop syndrome-76 [Instrukciya po veterinarnomu primeneniyu vakciny asociirovannoj protiv n'yukaslskoj bolezni, infekcionnogo bronhita kur i sindroma snizheniya jajcenoskosti-76 inaktivirovannoj emul'girovannoj]: Approved by the Rosselkhoz nadzor 01.06.2018. Available at: http://www.arriah.ru/sites/default/files/instrukciya_ssyabknb_ot_01.06.18.pdf. (in Russian)

24. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In: *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2018;

Chap. 3.3.14: 964–983. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf.

25. Diel D. G., da Silva L. H., Liu H., Wang Z., Miller P. J., Afonso C. L. Genetic diversity of avian paramyxovirus type 1: proposal for a unified nomenclature and classification system of Newcastle disease virus genotypes. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12 (8): 1770–1779. DOI: 10.1016/j.meegid.2012.07.012.

Поступила 15.01.2021

Принята в печать 03.03.2021

Received on 15.01.2021

Approved for publication on 03.03.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Фролов Сергей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Мороз Наталья Владимировна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Чвала Илья Александрович, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и мониторингу ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Ирза Виктор Николаевич, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Sergey V. Frolov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Natalya V. Moroz, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ilya A. Chvala, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Viktor N. Irza, Doctor of Sciences (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.