



Молекулярная идентификация вируса ньюкаслской болезни, выделенного в домашнем птицеводстве Подмоскovie летом 2022 года

А. А. Трещалина¹, А. А. Ртищев², Е. Ю. Шустова¹, А. В. Белякова¹, А. С. Гамбарян¹, Е. Ю. Боравлева¹

¹ ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) (ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова), г. Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

В августе 2022 г. в Московской области (городской округ Черноголовка, деревня Старки) на личном подворье внезапно начался падеж кур, в результате которого в течение нескольких дней погибли или заболели все 45 голов этого хозяйства со следующими признаками: выделение серой слизи из ноздрей и клюва, резкие кашляющие звуки. Через 1–3 дня после появления симптомов птица погибала. Из тканей, полученных от павших кур, был выделен вирус ньюкаслской болезни, являющийся представителем обширного семейства парамиксовирусов. Определены нуклеотидные последовательности фрагментов гена F, кодирующего поверхностный белок слияния, и гена NP, кодирующего белок нуклеокапсида. Для гена F определен мотив сайта протеолиза $_{109}\text{SGGRRQKRFIG}_{119}$, типичный для велегенного патотипа, также проведен филогенетический анализ, по результатам которого установлена принадлежность изолята к субгенотипу VII класса II подсемейства *Avulavirinae*. С помощью Basic Local Alignment Search Tool выявлено наиболее генетически близкое родство с изолятами из Ирана. Установлено, что среднее время смерти развивающихся куриных эмбрионов при заражении минимальной инфекционной дозой составило 52 ч, что характерно для велегенного патотипа. Вирус вызывал 100%-ю гибель цыплят шестинедельного возраста при оральном заражении, а также 100%-й падеж всего контактного молодняка, включая содержащихся в клетках на отдалении, что доказывает высокий уровень патогенности и контагиозности выделенного изолята и его способность распространяться не только фекально-оральным, но и аэрозольным путем. Гибель мышей при интраназальном заражении высокими дозами не наблюдалась.

Ключевые слова: вирус ньюкаслской болезни, патогенность, молекулярно-генетический анализ, контагиозность

Благодарность: Исследование профинансировано ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Для цитирования: Трещалина А. А., Ртищев А. А., Шустова Е. Ю., Белякова А. В., Гамбарян А. С., Боравлева Е. Ю. Молекулярная идентификация вируса ньюкаслской болезни, выделенного в домашнем птицеводстве Подмоскovie летом 2022 года. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 147–153. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-147-153.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Трещалина Анастасия Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), 108819, Россия, г. Москва, поселение Московский, поселок Института полиомиелита, домовладение 8, корп. 1, e-mail: treshchalinaA@gmail.com.

Molecular identification of Newcastle disease virus isolated on the poultry farm of the Moscow Oblast in summer of 2022

А. А. Трещалина¹, А. А. Ртищев², Е. Ю. Шустова¹, А. В. Белякова¹, А. С. Гамбарян¹, Е. Ю. Боравлева¹

¹ FSASI "Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Science" (Institute of Poliomyelitis) (FSASI "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia

² FSBSI "I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera" (I. Mechnikov NIIVS), Moscow, Russia

SUMMARY

In August 2022, a sudden death in backyard chickens was reported in the Moscow Oblast (urban district Chernogolovka, settlement Starki). As a result, within just a few days 45 chickens on this farm died or fell ill with the following signs – gray mucus discharge from nostrils and beak, coughing, gasping and rales. On day 1–3 after the onset of symptoms, the chicken died. The Newcastle disease virus, which is a representative of the *Paramyxoviruses* family, was isolated from the dead poultry. We determined the nucleotide sequences of fragments in F gene (encodes the fusion surface protein) and in NP gene (encodes the nucleocapsid protein). The motif of $_{109}\text{SGGRRQKRFIG}_{119}$ proteolysis site, typical for the velogenic pathotype, was determined for the F gene, and a phylogenetic analysis was carried out to demonstrate that the isolate belonged to Subgenotype VII, Class II of the subfamily *Avulavirinae*. The Basic Local Alignment Search Tool revealed that they are most genetically related with isolates from Iran. It was found that the average death time of developing chicken embryos, infected with a minimum infectious dose, was 52 hours, which is typical for the velogenic pathotype. The virus caused 100% death in six-week-old chickens after oral infection and 100% death in all contact

chickens, including those kept in cages at a distance, which proves the high level of pathogenicity and contagiousness of the recovered isolate and its ability to transmit both via fecal-oral and aerosols-borne routes. No death cases were reported in mice after intranasal infection with high doses.

Keywords: Newcastle disease virus, pathogenicity, molecular genetic analysis, contagiousness

Acknowledgements: The study was funded by the FSASI "Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Science" (Institute of Poliomyelitis).

For citation: Treshchalina A. A., Rtishchev A. A., Shustova E. Yu., Belyakova A. V., Gambaryan A. S., Boravleva E. Yu. Molecular identification of Newcastle disease virus isolated on the poultry farm of the Moscow Oblast in summer of 2022. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 147–153. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-147-153.

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

For correspondence: Anastasiya A. Treshchalina, Junior Researcher, Laboratory for Molecular Biology of Viruses, FSASI "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), 108819, Russia, Moscow, poselenie Moskovskii, poselok Institute of Poliomyelitis, domovladenie 8, corp. 1, e-mail: treshchalinaA@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Вирус ньюкаслской болезни (Newcastle disease virus, NDV), или *Avian orthoavulavirus 1* (AOAV-1), относится к обширному семейству *Paramixoviridae*, подсемейству *Avulavirinae*, представители которого вызывают заболевания различной степени тяжести у птиц [1]. NDV поражает более 240 видов диких и домашних птиц и представляет собой оболочечный вирус с отрицательной одноцепочечной РНК. Геном не сегментирован и имеет длину около 15 000 оснований, разделенных консервативными некодирующими областями на шесть генов в последовательности 3'-NP-P-M-F-HN-L-5', кодирующих восемь белков [2, 3].

Одним из ключевых факторов, влияющих на патогенность NDV, является количество основных кислот в сайте расщепления белка F [4]. Низкопатогенные штаммы вируса имеют последовательность сайта протеолиза $_{109}\text{SGGGR(K)QGRLLG}_{119}$ и могут расщепляться только внеклеточными трипсиноподобными протеазами. У высокопатогенных штаммов NDV мотив имеет несколько основных аминокислот (лизин или аргинин) и фенилаланин в аминокислотной позиции 117: $_{109}\text{SGGRRQ(K/R)RF(V/I)G}_{119}$. Белок такого вируса способен переходить в активную форму с помощью фуриноподобных протеаз, присутствующих во всех клетках организма. Данный вирус вызывает генерализованную инфекцию [5].

Филогенетически NDV делится на 2 класса, первый из которых включает всего один генотип и представлен преимущественно апатогенными штаммами вируса, изолированными от диких и одомашненных птиц [6]. Второй класс подразделяется на 21 генотип и включает разнообразные по вирулентности штаммы, поражающие широкий спектр хозяев [7]. Представители этого класса распространены по всему миру и многократно являлись причиной эпизоотий.

Для домашней птицы NDV представляет серьезную угрозу. Летальность среди зараженного поголовья кур может достигать 100%. По патогенности для цыплят NDV делят на лентогенный (низкопатогенный), мезогенный (вызывающий заболевания средней тяжести у взрослых кур и гибель молодых птиц) и велогенный (высокопатогенный для кур всех возрастов) патотипы [3].

Распространение вируса может происходить при торговле домашней птицей и с продуктами птицеводства, а также при перемещении работников зараженных птицефабрик и транспортных средств [8]. Еще одним путем распространения является миграция диких птиц [9, 10]. Хотя большинство апатогенных изолятов NDV, выделенных от диких птиц, не представляют серьезной опасности для кур, существует вероятность накопления мутаций, повышающих патогенность вируса [11].

Цель исследования – провести молекулярный и филогенетический анализ вируса ньюкаслской болезни, выделенного из патматериала от кур одного из личных хозяйств Подмосковья, определить его патотип и учесть патогенность и контагиозность изолята.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты. МусоKill AB (PAA Laboratories GmbH, Австрия); мини-набор для выделения вирусной РНК QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Германия); набор реактивов для обратной транскрипции MMLV RT kit, случайный декануклеотидный праймер, набор реактивов Tersus Plus PCR kit, вода без нуклеаз, ДНК-маркеры и буфер TAE (Евроген, Россия); ингибитор рибонуклеазы (НПК «Синтол», Россия); набор реагентов для секвенирования ABI PRISM® BigDye™ Terminator v3.1 (ThermoFisher Scientific Inc., США).

Изоляция вируса. Для выделения вируса использовали образцы легких и почек погибших кур. Фрагменты тканей растирали с мелкодисперсным стеклом, добавляли четырехкратный объем фосфатно-солевого буфера (PBS) с добавлением 0,4 мг/мл гентамицина, 0,1 мг/мл канамицина, 0,01 мг/мл нистатина и 2%-го раствора МусоKill AB. Суспензию центрифугировали 10 мин при 4000 об/мин, и 0,2 мл супернатанта инокулировали в 10-суточные развивающиеся куриные эмбрионы (ПКЭ) через аллантаис. Инкубация продолжалась 72 ч при 37 °С с контролем гибели эмбрионов дважды в сутки. Затем собирали вируссодержащую аллантаисную жидкость (ВАЖ) и исследовали в реакции гемагглютинации (РГА) с использованием 1%-й суспензии куриных эритроцитов по общепринятой методике [12]. Количество вируса выражали в гемагглютинирующих единицах. 50%-ю инфекционную дозу (EID₅₀) определяли титрованием в ПКЭ.

Выделение РНК, получение кДНК и секвенирование. Вирусную РНК экстрагировали из вирусосодержащих аллантоисных жидкостей с применением набора QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя. Реакция обратной транскрипции проводилась с помощью набора реактивов MMLV RT kit (Евроген, Россия) в присутствии случайного декануклеотидного праймера. Постановку полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляли в объеме 25 мкл с использованием набора реактивов Tersus Plus PCR Kit (Евроген, Россия): стерильная вода для ПЦР – 17,5 мкл; 10× Tersus Plus буфер – 2,5 мкл; 50× смесь dNTP – 0,5 мкл; прямой праймер fFapmv2 (10 мкМ) – 1 мкл; обратный праймер rFapmv2 (10 мкМ) – 1 мкл, кДНК – 2 мкл; 50× Tersus полимеразы – 0,5 мкл. Олигонуклеотиды, использованные в работе: fFapmv2 (ATGGGCTCCAGACCTTCTAC); rFapmv2 (CTGCCACTGCTAGTTGCGATAATCC); fNPapmv (GGTATTCTGTCTTCGGATTG); rNPapmv (TCATCCGATATAAACGCAT). Анализ результатов ПЦР проводили электрофорезом в 2%-м агарозном геле в трис-ацетатном буфере. ПЦР-фрагменты длиной около 500 п. н. вырезались для очистки из геля набором Qiagen MinElute Gel Extraction Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя. Определение нуклеотидных последовательностей ПЦР-фрагментов проводили с использованием набора реагентов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v3.1 (ThermoFisher Scientific, США) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе ABI PRISM 3130 (ThermoFisher Scientific, США). Анализ полученных хроматограмм проводили с помощью программы SnapGene Viewer¹.

Филогенетический анализ. Все последовательности скачивались из базы данных GenBank². Обработку последовательностей проводили с помощью BioEdit 7.2³ и MEGA X⁴ [13, 14]. Для байесовского филогенетического анализа методом MCMC (Markov Chain Monte Carlo) исследуемых нуклеотидных последовательностей ($n = 150$) с применением модели General Time Reversible (GTR) применяли программный пакет BEAST v1.10.4 [15]. Для визуализации и аннотирования дерева использовали онлайн-сервис iTOL v6⁵. Идентификацию генотипа проводили на основе филогенетической топологии.

Определение патотипа вируса. Патотип вируса определяли по методике mean death time (MDT). В аллантоисные полости 9-суточных РКЭ инокулировали по 0,2 мл десятикратных разведений свежей ВАЖ на PBS (от 10^{-3} до 10^{-7}), после чего инкубировали при 37 °C пять суток, проверяя 2 раза в день и регистрируя время смерти каждого эмбриона. MDT рассчитывали как среднее время смерти эмбриона при заражении минимальной летальной дозой. При значении MDT до 60 ч патотип вируса определяется как велогенный, от 60–90 – как мезогенный, больше 90 – как лентогенный.

Анализ патогенности и контагиозности вируса для кур. Цыплят породы леггорн 6-недельного возраста заражали перорально, добавляя вирус в поилку. Контрольной и контактной группам добавляли в поилку

свежую аллантоисную жидкость без вируса. Каждая группа содержала по 5 цыплят и изначально находилась в отдельных клетках. Наблюдения за цыплятами продолжали ежедневно в течение 10 сут после заражения.

Анализ патогенности вируса для мышей. Мышей линии BALB/c весом 10–12 г под легким эфирным наркозом заражали интраназально в объеме 50 мкл дозами от 10^3 до 10^6 ЭИД₅₀/мышь. Каждой дозой вируса инфицировали группу из 5–6 мышей. Контрольной группе вводили разведенную физиологическим раствором аллантоисную жидкость без вируса. Выживаемость и вес мышей регистрировали в течение 15 сут после заражения.

Этический статус. Исследования с участием животных проводили в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 18 марта 1986 г.)»⁶. Дизайн исследования одобрен этическим комитетом ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (разрешение № 4 от 2 декабря 2014 г.). Принимались все меры для облегчения страданий животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В конце августа 2022 г. в Московской области (городской округ Черноголовка, деревня Старки) произошел массовый падеж кур. Патологический материал от погибших птиц поступил в ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» для лабораторных исследований. Образцы суспензии тканей легких и почек были инокулированы в 10-суточные РКЭ через аллантоис. Методом ПЦР с обратной транскрипцией во всех пробах ВАЖ, давших положительный результат в РГА, был обнаружен вирус ньюкаслской болезни. Изоляту присвоено название NDV/chicken/Moscow/6081/2022.

Молекулярный и филогенетический анализ. В ходе исследования изолята был амплифицирован и секвенирован фрагмент гена F (438 н. о.), включающий участок, кодирующий сайт протеолиза белка F. Анализ полученной нуклеотидной последовательности, сделанный с помощью Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)⁷, показал, что изолят NDV/chicken/Moscow/6081/2022 наиболее близок к вирусам, выделенным в Иране от кур в 2011–2013 гг. (сходство 97,03–97,48% с пятью первыми последовательностями). По полученной последовательности установлено наличие в сайте протеолиза белка F исследуемого вируса нескольких основных аминокислотных остатков (аргинин/лизин) с мотивом ₁₀₉SGGRRQKRF₁₁₉. Такая последовательность специфична для вирулентных штаммов на основании критериев, используемых Всемирной организацией здравоохранения животных для оценки вирулентности изолятов NDV [12].

Дополнительно получена нуклеотидная последовательность гена NP, кодирующего белок нуклеокапсида (697 н. о.). Этот ген также может косвенно влиять на вирулентность NDV. Так, нуклеотиды 546 и 555 различны для лентогенных и велогенных штаммов [16].

¹ SnapGene Viewer. Режим доступа: <https://www.snapgene.com/snapgene-viewer>.

² GenBank. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>.

³ BioEdit. Режим доступа: <https://bioedit.software.informer.com>.

⁴ MEGA X. Режим доступа: <https://www.megasoftware.net>.

⁵ iTOL. Режим доступа: <https://itol.embl.de>.

⁶ Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901909691>.

⁷ BLAST. Режим доступа: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

Tree scale: 10

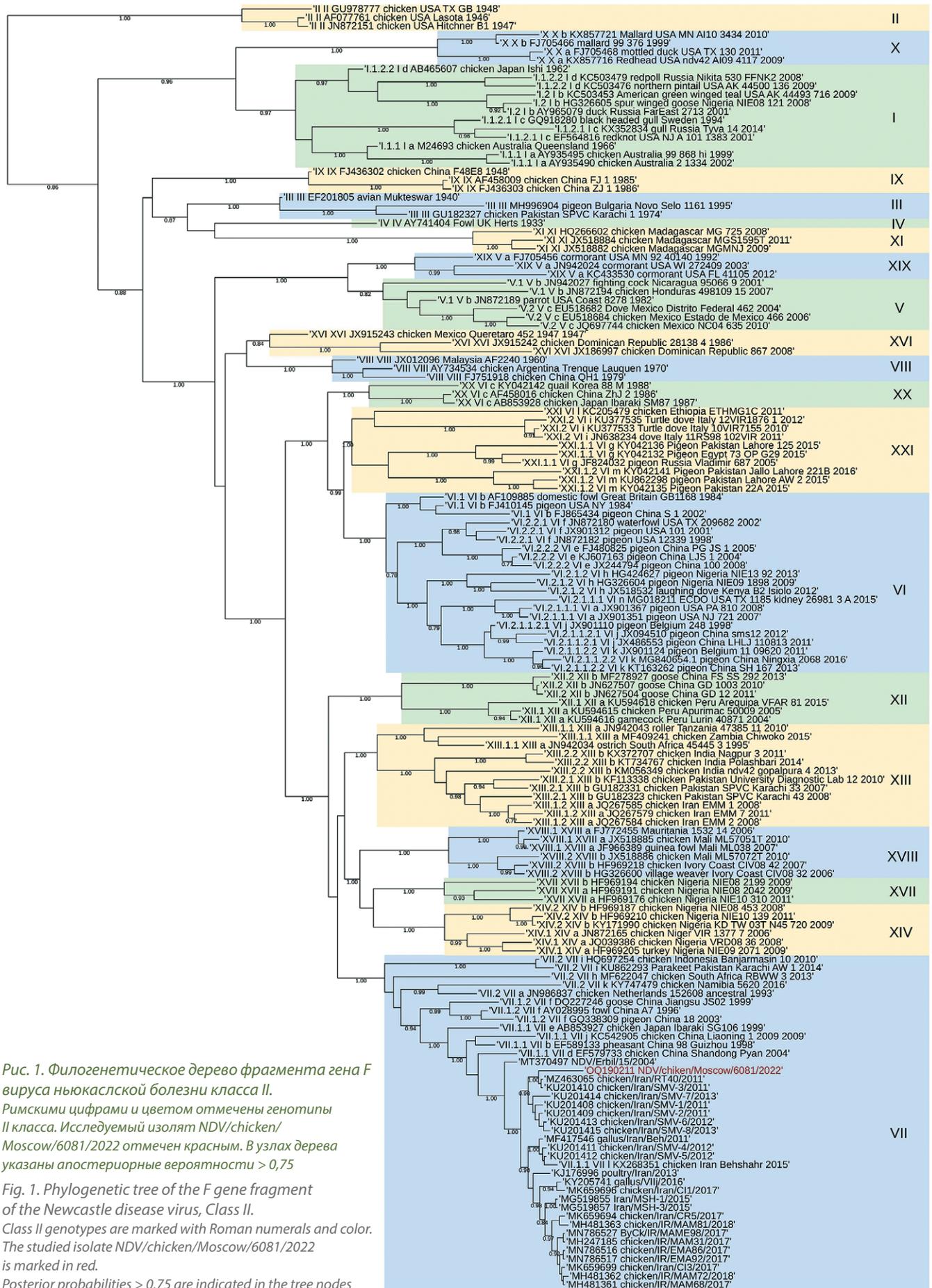


Рис. 1. Филогенетическое дерево фрагмента гена F вируса ньюкаслской болезни класса II. Римскими цифрами и цветом отмечены генотипы II класса. Исследуемый изолят NDV/chicken/Moscow/6081/2022 отмечен красным. В узлах дерева указаны апостериорные вероятности > 0,75

Fig. 1. Phylogenetic tree of the F gene fragment of the Newcastle disease virus, Class II. Class II genotypes are marked with Roman numerals and color. The studied isolate NDV/chicken/Moscow/6081/2022 is marked in red. Posterior probabilities > 0.75 are indicated in the tree nodes

По результатам секвенирования позиции 546 и 555 гена NP выделенного изолята соответствуют велегенному варианту (два тимина (Т) в позициях 546 и 555). Обе секвенированные последовательности загружены в базу данных GenBank под номерами OQ190211 и OQ190212.

Для филогенетического анализа взята выборка из репрезентативных последовательностей каждого генотипа второго класса ($n = 125$) [7], которая была объединена с последовательностью фрагмента гена F московского изолята и выборкой из 24 ближайших вирусов, определенных с помощью BLAST. Филогенетический анализ фрагмента гена F показал, что изолят NDV/chicken/Moscow/6081/2022 относится к генотипу VII класса II (рис. 1).

Генотип VII класса II возник в Азии, предположительно, в 1980-х гг. и в настоящее время широко распространен в Евразии и Африке, а также зафиксирован в Южной Америке [17–19]. Он ответственен за четвертую панзоотию ньюкаслской болезни, которая продолжается с 1980-х гг. по сегодняшний день [9]. Данный генотип включает в себя только велегенные штаммы NDV, вызывающие высокую смертность среди птиц [20].

Определение патогенности и контагиозности изолята NDV/chicken/Moscow/6081/2022 для кур. Установили, что значение MDT для 9-суточных ПКЭ составляет 52 ч, что соответствует велегенному типу (до 60 ч).

Для изучения контагиозности изолята сформировали три группы по пять цыплят 6-недельного возраста. Для заражения птицам первой группы добавили в поилку 10^8 ЭИД₅₀ вируса NDV/chicken/Moscow/6081/2022. На следующий день инфицированных цыплят пересадили в клетку к особям второй группы. Клетка № 1 была удалена и продезинфицирована. Цыплята третьей группы находились в клетке № 3, расположенной в двух метрах от клеток № 1 и 2 так, что попадание частичек корма и фекалий было исключено, но воздушный поток и перенос мелкой пыли между клетками был возможен. Динамика гибели инфицированных и контактных птиц представлена на рисунке 2. Все инфицированные цыплята погибли к 5-му дню, контактные особи из второй группы пали на 6-й день, а в третьей группе цыплята начали болеть на 6–7-й день, после чего к 10-му дню погибли все. С помощью ПЦР в органах павших птиц был выявлен вирус NDV/chicken/Moscow/6081/2022.

Таким образом, контактные цыплята (группа 2) заразились от инфицированных почти сразу. Гибель цыплят из группы 3, которые непосредственно не контактировали с больными птицами, вероятно, объясняется тем, что в какой-то момент через воздушный поток заразился один цыпленок, который инициировал заражение и быструю гибель всей группы. Результат этого опыта демонстрирует очень высокую патогенность и контагиозность изолята NDV/chicken/Moscow/6081/2022 и показывает, что инфицирование происходит не только фекально-оральным, но и аэрозольным путем.

Патогенность вируса для мышей. Представители *Avulavirinae*, как правило, не патогенны для млекопитающих. Однако, учитывая исключительно высокую патогенность и контагиозность изолята NDV/chicken/Moscow/6081/2022 для кур, было решено убедиться в его безопасности для млекопитающих.

Динамика веса мышей, инфицированных интраназально вирусом NDV/chicken/Moscow/6081/2022,

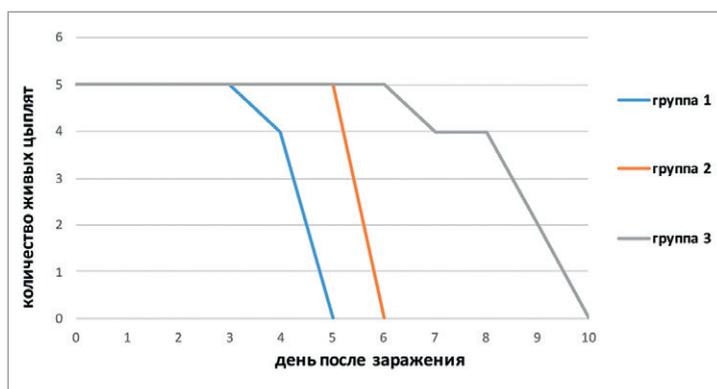


Рис. 2. Динамика гибели инфицированных и контактных цыплят
Fig. 2. Dynamics of death of infected and contact chickens

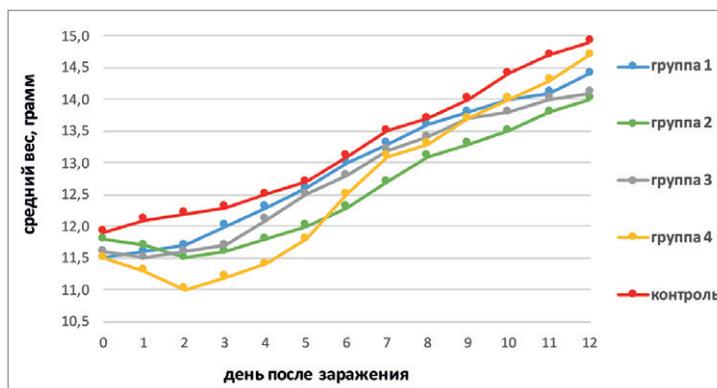


Рис. 3. Динамика веса мышей, инфицированных вирусом NDV/chicken/Moscow/6081/2022

Fig. 3. Dynamics of the mouse weight changes upon infection with NDV virus/chicken/Moscow/6081/2022

представлена на рисунке 3. Группы 1, 2, 3 и 4 были инфицированы в дозах 10^3 , 10^4 , 10^5 и 10^6 ЭИД₅₀/мышь соответственно. Контрольной группе вводили плацебо (аллантоиновая жидкость без вируса, разведенная физраствором). Выживаемость и вес мышей регистрировали в течение 12 сут после заражения. В ходе опыта ни одна мышь не погибла. Как видно из рисунка 3, в группах, инфицированных высокими дозами вируса, наблюдается небольшое отставание в весе на 2–5-й день после заражения, однако к 12-му дню все мыши были практически здоровы.

Таким образом, изолят вируса ньюкаслской болезни NDV/chicken/Moscow/6081/2022 почти не патогенен для мышей, несмотря на очень высокую патогенность для цыплят.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В августе 2022 г. в частном хозяйстве Подмосковья в течение короткого времени после появления первых симптомов заболевания погибло все поголовье кур. В тканях органов погибших птиц был обнаружен вирус ньюкаслской болезни. Лабораторное исследование изолята показало высокую патогенность данного вируса для кур и отсутствие патогенности для мышей.

С помощью молекулярного анализа и теста MDT проверено несколько факторов, указывающих на отношение изолята NDV/chicken/Moscow/6081/2022 к группе велегенных NDV: наличие полиосновного сайта протеолиза белка слияния F, наличие двух аминокислот

в белке нуклеокапсида NP, характерных для высокопатогенных NDV, значение MDT – до 60 ч.

Филогенетически выделенный вирус относится к генотипу VII класса II. Данный генотип относится к «поздним» (возникшим после 1960 г.) и включает в себя вирусы только велогенного патотипа. В настоящее время чаще всего именно с ним связаны вспышки заболевания у кур в странах Азии и Ближнего Востока [21]. Его широкое распространение отчасти обосновано тем, что относящиеся к данному генотипу штаммы способны распространяться среди вакцинированного популярными коммерческими вакцинами поголовья домашних птиц [20].

В Российской Федерации NDV представляет потенциальную экономическую угрозу для птицеводческой отрасли. Согласно статистике Россельхознадзора, с 2019 г. зарегистрировано более 25 вспышек ньюкаслской болезни в различных регионах страны⁸. Данные серологических исследований показывают увеличение после 2017 г. доли иммунных особей среди диких птиц и невакцинированных домашних уток [22–25]. Для контроля распространения вируса необходимо продолжать мониторинг, а также своевременно вакцинировать домашнюю птицу в частных хозяйствах [26, 27].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rima B., Balkema-Buschmann A., Dundon W. G., Duprex P., Easton A., Fouchier R., et al. ICTV virus taxonomy profile: *Paramyxoviridae*. *J. Gen. Virol.* 2019; 100 (12): 1593–1594. DOI: 10.1099/jgv.0.001328.
- The Negative Sense Single Stranded RNA Viruses. In: *Virus Taxonomy*. Ed. by C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, L. A. Ball. Academic Press; 2005; 607–738. DOI: 10.1016/B978-0-12-249951-7.50014-6.
- Alexander D. J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000; 19 (2): 443–462. DOI: 10.20506/rst.19.2.1231.
- Ganar K., Das M., Sinha S., Kumar S. Newcastle disease virus: current status and our understanding. *Virus Res.* 2014; 184: 71–81. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.02.016.
- Glickman R. L., Syddall R. J., Iorio R. M., Sheehan J. P., Bratt M. A. Quantitative basic residue requirements in the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein as a determinant of virulence for Newcastle disease virus. *J. Virol.* 1988; 62 (1): 354–356. DOI: 10.1128/JVI.62.1.354-356.1988.
- Czeglédi A., Ujvári D., Somogyi E., Wehmann E., Werner O., Lomniczi B. Third genome size category of avian paramyxovirus serotype 1 (Newcastle disease virus) and evolutionary implications. *Virus Res.* 2006; 120 (1–2): 36–48. DOI: 10.1016/j.virusres.2005.11.009.
- 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.
- Beard C. W., Hanson R. P. Newcastle disease. In: *Diseases of Poultry*. Ed. by M. S. Hofstad, H. J. Barnes, B. W. Calnek, W. M. Reid, H. W. Yoder, et al. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1984; 452–470.
- 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.
- Karamendin K., Kydyrmanov A. Cormorants as a potentially important reservoir and carrier of Newcastle disease virus on the Asian continent. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:648091. DOI: 10.3389/fvets.2021.648091.
- Shengqing Y., Kishida N., Ito H., Kida H., Otsuki K., Kawaoka Y., Ito T. Generation of velogenic Newcastle disease viruses from a nonpathogenic waterfowl isolate by passaging in chickens. *Virology*. 2002; 301 (2): 206–211. DOI: 10.1006/viro.2002.1539.
- Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In: *WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.14. Режим доступа: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf.
- Staden R. The Staden sequence analysis package. *Mol. Biotechnol.* 1996; 5 (3): 233–241. DOI: 10.1007/BF02900361.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35 (6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.

⁸ Россельхознадзор. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/>.

15. Drummond A. J., Rambaut A., Shapiro B., Pybus O. G. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Mol. Biol. Evol.* 2005; 22 (5): 1185–1192. DOI: 10.1093/molbev/msi103.

16. Tan S. W., Ideris A., Omar A. R., Yusoff K., Hair-Bejo M. Detection and differentiation of velogenic and lentogenic Newcastle disease viruses using SYBR Green I real-time PCR with nucleocapsid gene-specific primers. *J. Virol. Methods*. 2009; 160 (1–2): 149–156. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.05.006.

17. Eid A. A. M., Hussein A., Hassanin O., Elbakrey R. M., Daines R., Sadeyen J. R., et al. Newcastle disease genotype VII prevalence in poultry and wild birds in Egypt. *Viruses*. 2022; 14 (10):2244. DOI: 10.3390/v14102244.

18. Xue C., Xu X., Yin R., Qian J., Sun Y., Wang C., et al. Identification and pathotypical analysis of a novel Vlk sub-genotype Newcastle disease virus obtained from pigeon in China. *Virus Res.* 2017; 238: 1–7. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.05.011.

19. Perozo F., Marcano R., Afonso C. L. Biological and phylogenetic characterization of a genotype VII Newcastle disease virus from Venezuela: efficacy of field vaccination. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (4): 1204–1208. DOI: 10.1128/JCM.06506-11.

20. Pandarangga P., McAllister M. M., Peaston A. E., Ngai Y. T., Cahyono M. I., Hemmatzadeh F. Performance comparison of homologous and heterologous Newcastle disease virus in vaccines and antibody tests. *Res. Vet. Sci.* 2022; 149: 82–89. DOI: 10.1016/j.rvsc.2022.06.014.

21. Miller P. J., Decanini E. L., Afonso C. L. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infect. Genet. Evol.* 2010; 10 (1): 26–35. DOI: 10.1016/j.meegid.2009.09.012.

22. Gogoi P., Ganar K., Kumar S. Avian paramyxovirus: a brief review. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (1): 53–67. DOI: 10.1111/tbed.12355.

23. Волкова М. А., Чвала Ир. А., Ярославцева П. С., Сосипаторова В. Ю., Чвала И. А. Серологический мониторинг ньюкаслской болезни в России за 2017 г. *Ветеринария сегодня*. 2018; (4): 26–30. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-4-27-26-30.

24. Волкова М. А., Чвала Ир. А., Осипова О. С., Кулагина М. А., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году. *Ветеринария сегодня*. 2020; (2): 76–82. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82.

25. Кулагина М. А., Волкова М. А., Чвала Ир. А., Осипова О. С., Ярославцева П. С., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни на территории Российской Федерации в 2020 г. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 142–148. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-142-148.

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

27. Инструкция о мероприятиях по борьбе с ньюкаслской болезнью (псевдоочумой) птиц: утв. ГУВ МСХ СССР 09.06.1976 (с изменениями и дополнениями от 28.08.1978). Режим доступа: <http://vetorel.ru/website/img/docs/newak.pdf>.

REFERENCES

- Rima B., Balkema-Buschmann A., Dundon W. G., Duprex P., Easton A., Fouchier R., et al. ICTV virus taxonomy profile: *Paramyxoviridae*. *J. Gen. Virol.* 2019; 100 (12): 1593–1594. DOI: 10.1099/jgv.0.001328.
- The Negative Sense Single Stranded RNA Viruses. In: *Virus Taxonomy*. Ed. by C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, L. A. Ball. Academic Press; 2005; 607–738. DOI: 10.1016/B978-0-12-249951-7.50014-6.
- Alexander D. J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000; 19 (2): 443–462. DOI: 10.20506/rst.19.2.1231.
- Ganar K., Das M., Sinha S., Kumar S. Newcastle disease virus: current status and our understanding. *Virus Res.* 2014; 184: 71–81. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.02.016.
- Glickman R. L., Syddall R. J., Iorio R. M., Sheehan J. P., Bratt M. A. Quantitative basic residue requirements in the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein as a determinant of virulence for Newcastle disease virus. *J. Virol.* 1988; 62 (1): 354–356. DOI: 10.1128/JVI.62.1.354-356.1988.
- Czeglédi A., Ujvári D., Somogyi E., Wehmann E., Werner O., Lomniczi B. Third genome size category of avian paramyxovirus serotype 1 (Newcastle disease virus) and evolutionary implications. *Virus Res.* 2006; 120 (1–2): 36–48. DOI: 10.1016/j.virusres.2005.11.009.
- 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.
- Beard C. W., Hanson R. P. Newcastle disease. In: *Diseases of Poultry*. Ed. by M. S. Hofstad, H. J. Barnes, B. W. Calnek, W. M. Reid, H. W. Yoder, et al. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1984; 452–470.

9. 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.
10. Karamendin K., Kydrymanov A. Cormorants as a potentially important reservoir and carrier of Newcastle disease virus on the Asian continent. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:648091. DOI: 10.3389/fvets.2021.648091.
11. Shengqing Y., Kishida N., Ito H., Kida H., Otsuki K., Kawaoka Y., Ito T. Generation of velogenic Newcastle disease viruses from a nonpathogenic waterfowl isolate by passaging in chickens. *Virology.* 2002; 301 (2): 206–211. DOI: 10.1006/viro.2002.1539.
12. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In: *WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.* 2021; Chapter 3.3.14. Available at: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf.
13. Staden R. The Staden sequence analysis package. *Mol. Biotechnol.* 1996; 5 (3): 233–241. DOI: 10.1007/BF02900361.
14. Kumar S., Stecher G., Li M., Nkya C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35 (6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.
15. Drummond A. J., Rambaut A., Shapiro B., Pybus O. G. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Mol. Biol. Evol.* 2005; 22 (5): 1185–1192. DOI: 10.1093/molbev/msi103.
16. Tan S. W., Ideris A., Omar A. R., Yusoff K., Hair-Bejo M. Detection and differentiation of velogenic and lentogenic Newcastle disease viruses using SYBR Green I real-time PCR with nucleocapsid gene-specific primers. *J. Virol. Methods.* 2009; 160 (1–2): 149–156. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.05.006.
17. Eid A. A. M., Hussein A., Hassanin O., Elbakrey R. M., Daines R., Sadeen J. R., et al. Newcastle disease genotype VII prevalence in poultry and wild birds in Egypt. *Viruses.* 2022; 14 (10):2244. DOI: 10.3390/v14102244.
18. Xue C., Xu X., Yin R., Qian J., Sun Y., Wang C., et al. Identification and pathotypical analysis of a novel Vlk sub-genotype Newcastle disease virus obtained from pigeon in China. *Virus Res.* 2017; 238: 1–7. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.05.011.
19. Perozo F., Marcano R., Afonso C. L. Biological and phylogenetic characterization of a genotype VII Newcastle disease virus from Venezuela: efficacy of field vaccination. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (4): 1204–1208. DOI: 10.1128/JCM.06506-11.
20. Pandarangga P., McAllister M. M., Peaston A. E., Ngai Y. T., Cahyono M. I., Hemmatzadeh F. Performance comparison of homologous and heterologous Newcastle disease virus in vaccines and antibody tests. *Res. Vet. Sci.* 2022; 149: 82–89. DOI: 10.1016/j.rvsc.2022.06.014.
21. Miller P. J., Decanini E. L., Afonso C. L. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infect. Genet. Evol.* 2010; 10 (1): 26–35. DOI: 10.1016/j.meegid.2009.09.012.
22. Gogoi P., Ganar K., Kumar S. Avian paramyxovirus: a brief review. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (1): 53–67. DOI: 10.1111/tbed.12355.
23. Volkova M. A., Chvala I. A., Yaroslavl'tseva P. S., Sosipatorova V. Yu., Chvala I. A. Serological monitoring of Newcastle disease in Russia 2017. *Veterinary Science Today.* 2018; (4): 26–30. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-4-27-26-30.
24. Volkova M. A., Chvala I. A., Osipova O. S., Kulagina M. A., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2019. *Veterinary Science Today.* 2020; (2): 76–82. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82.
25. Kulagina M. A., Volkova M. A., Chvala I. A., Osipova O. S., Yaroslavl'tseva P. S., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2020. *Veterinary Science Today.* 2022; 11 (2): 142–148. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-142-148.
26. 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): 44–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-44-51.
27. Instructions on control measures against Newcastle disease (pseudo-poultry plague): approved by the Chief Veterinary Department of the USSR MoA on 09 June 1976 (with amendments and additions dated back to August 28, 1978). Available at: <http://vetorel.ru/website/img/docs/newak.pdf>.

Поступила в редакцию / Received 28.02.2023

Поступила после рецензирования / Revised 29.03.2023

Принята к публикации / Accepted 11.04.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Трещалина Анастасия Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3801-2413>, e-mail: treshchalinaA@gmail.com.

Ртищев Артем Андреевич, научный сотрудник лаборатории РНК-содержащих вирусов ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>, e-mail: rtishchevartyom@gmail.com.

Шустова Елена Юрьевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1314-0152>, e-mail: shustova_eu@chumakovs.su.

Белякова Алла Владимировна, кандидат биологических наук, ученый секретарь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4363-6394>, e-mail: belyakova_av@chumakovs.su.

Гамбарян Александра Сергеевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1892-0548>, e-mail: al.gambaryan@gmail.com.

Боравлева Елизавета Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8491-4640>, e-mail: elisavetbor@gmail.com.

Anastasiya A. Treshchalina, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, FSASI "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3801-2413>, e-mail: treshchalinaA@gmail.com.

Artem A. Rtishchev, Researcher, Laboratory of RNA-containing Viruses, I. Mechnikov NIIVS, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>, e-mail: rtishchevartyom@gmail.com.

Elena Yu. Shustova, Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, FSASI "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1314-0152>, e-mail: shustova_eu@chumakovs.su.

Alla V. Belyakova, Candidate of Science (Biology), Scientific Secretary, FSASI "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4363-6394>, e-mail: belyakova_av@chumakovs.su.

Aleksandra S. Gambaryan, Doctor of Science (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, FSASI "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1892-0548>, e-mail: al.gambaryan@gmail.com.

Elizaveta Yu. Boravleva, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, FSASI "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8491-4640>, e-mail: elisavetbor@gmail.com.