



2025

НАУКОВІ ПРАЦІ

НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Том 31 № 2

*Журнал
«Наукові праці Національного університету харчових технологій»
видається з 1938 року*

КИЇВ ✦ НУХТ ✦ 2025

UDC 663/664
Media ID R30-02089

Articles with the results of fundamental theoretical developments and applied research in the field of technical and economic sciences are published in this journal. The scripts of articles are reviewed beforehand by leading specialists of corresponding branch.

The journal was designed for professors, tutors, scientists, post-graduates, students of higher education establishments and executives of the food industry.

Journal "Scientific Works of National University of Food Technologies" is included into the list of professional editions of Ukraine of technical (specialties — 121, 126, 133, 141, 144, 151, 162, 181) and economic sciences (specialties — 051, 073, 075), category "B" (Decree of MES of Ukraine #975 from July 11, 2019), where the results of dissertations for scientific degrees of PhD and candidate of science can be published.

The Journal "Scientific Works of National University of Food Technologies" is indexed by the following scientometric databases:

- Index Copernicus
- EBSCOhost
- Google Scholar

The Journal is recommended for publication of research results by the Ministry of Science and Higher Education of Poland.

Editorial office address:

National University of
Food Technologies
Volodymyrska str., 68,
building B, room 412
01601 Kyiv, Ukraine

Recommended for publication by the Academic Council of the National University of Food Technologies. Protocol No. 8 from 24th of April, 2025

© NUFT, 2025

УДК 663/664
Ідентифікатор медіа R30-02089

У журналі публікуються статті за результатами фундаментальних теоретичних розробок і прикладних досліджень у галузі технічних та економічних наук. Рукописи статей попередньо рецензуються провідними спеціалістами відповідної галузі.

Для викладачів, наукових працівників, аспірантів, докторантів і студентів вищих навчальних закладів, керівників підприємств харчової промисловості.

Журнал «Наукові праці Національного університету харчових технологій» включено в перелік наукових фахових видань України з технічних (спеціальності — 121, 126, 133, 141, 144, 151, 162, 181) та економічних наук (спеціальності — 051, 073, 075), категорія «Б» (Наказ МОН України № 975 від 11.07.2019), в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук.

Журнал «Наукові праці Національного університету харчових технологій» індексується такими наукометричними базами:

- Index Copernicus
- EBSCOhost
- Google Scholar

Журнал рекомендовано Міністерством науки і вищої освіти Польщі для публікації результатів наукових досліджень.

Адреса редакції:

Національний університет
харчових технологій
вул. Володимирська, 68,
корпус Б, к. 412,
м. Київ, 01601

Рекомендовано вченою радою Національного університету харчових технологій. Протокол № 9 від 24 квітня 2025 року

© НУХТ, 2025

IMPROVEMENT OF BIOTECHNOLOGY FOR INACTIVATED NEWCASTLE DISEASE VACCINES THROUGH OPTIMIZATION OF THE OIL PHASE CONTENT

A. Chehrynets^{1,2}, V. Krasinko¹

¹National University of Food Technologies

²LLC «Biotestlab»

Key words:

Newcastle disease
Virus
Biotechnology
Inactivated vaccine
Adjuvant
Immunogenicity

Article history:

Received 14.03.2025
Received in revised form
31.03.2025
Accepted 14.04.2025

Corresponding author:

V. Krasinko
E-mail:
viktory.krasinko@gmail.com

Citation: Чегринець А. І., Красинько В. О. (2025). Удосконалення біотехнології інактивованих вакцин проти ньюкаслської хвороби шляхом підбору кількісного вмісту масляної фази. *Наукові праці НУХТ*, 31(2), 73—83.
DOI: 10.24263/2225-2924-2025-31-2-8

ABSTRACT

The quality of poultry products is crucial for food security and achieving the Sustainable Development Goals (SDGs), particularly eradicating hunger (SDG 2) and ensuring public health (SDG 3). Controlling infectious diseases like Newcastle disease through biotechnological approaches is essential.

Newcastle disease is a serious threat to poultry, causing high mortality (up to 100%) and economic losses. Vaccination is the most reliable method to control the infection and minimize losses.

This study compared inactivated Newcastle disease vaccines with different oil-to-water phase ratios. Two water-in-oil emulsion vaccines were prepared using a mineral oil-based adjuvant with surfactants. The aqueous phase contained the inactivated Newcastle disease virus antigen of the "La-Sota" strain, produced by Biotestlab LLC.

Immunological assessment was conducted on 1-day-old specific pathogen-free (SPF) chicks, divided into three groups (n=8) and vaccinated subcutaneously. Blood samples were collected on days 14, 21, 28, 35, and 42 post-vaccination. Vaccine efficacy was evaluated using the hemagglutination inhibition (HI) test. Both formulations induced a high-level immune response and met the kinematic viscosity criterion ($\leq 200 \text{ mm}^2/\text{s}$ at $P < 0.05$), ensuring fluidity and needle passage.

The results support the potential use of both vaccines in poultry farming for Newcastle disease prevention.

УДОСКОНАЛЕННЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ ІНАКТИВОВАНИХ ВАКЦИН ПРОТИ НЬЮКАСЛСЬКОЇ ХВОРОБИ ШЛЯХОМ ПІДБОРУ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ МАСЛЯНОЇ ФАЗИ

А. І. Чегринець^{1,2}, В.О. Красінько¹

¹Національний університет харчових технологій

²ТОВ «Біотестлаб»

Якість м'яса та яєць птиці є важливою для продовольчої безпеки та досягнення Цілей сталого розвитку (ЦСР), зокрема подолання голоду (ЦСР 2) і забезпечення здоров'я населення (ЦСР 3). Контроль інфекційних захворювань, зокрема ньюкаслської хвороби, та застосування біотехнологічних підходів у їх профілактиці та лікуванні мають особливе значення.

Ньюкаслська хвороба загрожує домашній птиці й викликає високу смертність (до 100%) та економічні втрати. Вакцинація є єдиним надійним способом контролю та зменшення збитків.

Метою дослідження було порівняння характеристик інактивованої вакцини з різним співвідношенням масляної та водної фаз.

Підготовлено дві емульсійні вакцини типу «вода в маслі» з ад'ювантом на основі мінеральної олії з ПАР. Водна фаза містила інактивований антиген вірусу штаму «Ла-Сота» виробництва ТОВ «Біотестлаб». Імунологічну оцінку проводили на 1-денних вільних від патогенної флори (ВПФ) курчатах, отриманих із ВПФ ембріонів. Курчат розподілили на три групи (n=8) та вакцинували підшкірно. Відбір крові здійснювали через 14, 21, 28, 35 і 42 дні. Оцінку ефективності проводили методом реакції затримки агрегації РЗГА. Обидві рецептури викликали високий рівень імунної відповіді та відповідали критерію кінематичної в'язкості (≤ 200 мм²/с при $P < 0,05$), що забезпечує текучість вакцини.

Результати свідчать про можливість використання обох вакцин у птахівництві для профілактики ньюкаслської хвороби.

Ключові слова: ньюкаслська хвороба, вірус, біотехнологія, інактивована вакцина, ад'ювант, імуногенність.

Постановка проблеми. Ньюкаслська хвороба — це надзвичайно заразне вірусне захворювання, що вражає різні види домашньої та дикої птиці, особливо чутливими до нього є кури. Подібно до пташиного грипу, це захворювання спричиняє значні економічні втрати в галузі птахівництва та загрожує продовольчій безпеці. Висока контагіозність і здатність вірусу викликати масову смертність птиці (до 100%) призводять до різкого скорочення виробництва м'яса та яєць, а також значних фінансових витрат, пов'язаних із заходами з ліквідації спалахів хвороби. (Charkhkar та ін., 2024; Saleh E. Aly та ін., 2018; Cahyani, Widyarini, & Wibowo, 2020; Jeon та ін., 2008). Зараження ньюкаслською хворобою відбувається через вдихання або ковтання вірусу, і його поширення від однієї птиці до іншої залежить від наявності вірусу в його вірулентній інфекційній формі та його короткого інкубаційного періоду 5—6 днів. Захворювання, зазвичай, вражає дихальну,

шлунково-кишкову та нервову системи. Клінічні ознаки, пов'язані з ньюкаслською хворобою, часто починаються з млявості, прискореної частоти дихання та слабкості, з подальшим загальним ураженням травної, дихальної, нервової систем та смертю (Chansiripornchai, & Sasipreeyajan, 2006). Також ньюкаслська хвороба є ендемічною в багатьох частинах світу, що розвиваються, і легко передається різними шляхами. Її було визнано захворюванням, яке підлягає обов'язковій реєстрації з огляду на швидке поширення та великий масштаб впливу на птахівництво. Вірулентна інфекція вірусу ньюкаслської хвороби, зазвичай, супроводжується експіраторною задишкою, крововиливом у різні органи, що призводить до смерті. Це вірусне захворювання є причиною серйозних економічних втрат у галузі птахівництва, яке вимагає до себе особливо пильної уваги (Hongzhuang та ін., 2019).

Протягом останніх 50 років ньюкаслська хвороба була дуже серйозною проблемою для птахівництва в багатьох країнах. З огляду на це було докладено величезних зусиль для контролю над цією хворобою: розуміння її епідеміології та вірусології й розроблення біотехнологічних підходів щодо запобігання її поширення (Charkhkar та ін., 2024; Alexander, Aldous, & Fuller, 2012).

Ньюкаслська хвороба спричинена вірусом хвороби Ньюкасла (NDV), одноланцюговим негативно-смысловим РНК-вірусом, класифікованим як представник роду *Avulavirus* родини *Paramyxoviridae* класу *Mononegavirales* (Ogali та ін., 2020; Amarasinghe та ін., 2017). Вірус хвороби Ньюкасла складається з геному розміром 15 кб із шістьма відкритими рамками зчитування (ORF), що кодують шість основних структурних білків, зокрема нуклеопротеїн (NP), фосфопротеїн (P), матричний білок (M), злитий білок (F), гемаглютининнейрамінідазу (HN) і РНК-залежну РНК-полімеразу (L) у такому порядку: 3'-NP-PMF-HN-L-5' (Ogali та ін., 2020; Gogoi, Ganar, & Kumar, 2015; Dimitrov, Ramey, Qiu, Bahl, & Afonso, 2016). Серед цих білків злитий білок (F) вважається головною молекулярною детермінантою патогенності NDV у курей (De Leeuw, Koch, Hartog, Ravenshorst, & Peeters, 2005). Відомо, що вірулентні штами NDV мають кілька основних амінокислотних залишків (аргініну та лізину) між амінокислотними положеннями 112—116 і залишком фенілаланіну в положенні 117 у F-білку. Навпаки, ізоляти з низькою вірулентністю вважаються ізолятами з одноосновним сайтом розщеплення F і залишком лейцину в положенні 117 (Aljumaili, Bello, Year, Omar, & Ideris, 2020). Крім того, ізоляти вірусу ньюкаслської хвороби можна патотипово класифікувати на лентогенні (помірно вірулентні), мезогенні (помірно вірулентні) та велогенні (високо вірулентні) штами (Vijayarani, Muthusamy, Tirumurugaan, Sakthivelan, & Kumanan, 2010). Крім того, вірус ньюкаслської хвороби класифікується на понад 18 філогенетично різних генотипів (Bello та ін., 2018). Незважаючи на високе генетичне різноманіття, всі ізоляти вірусу ньюкаслської хвороби серологічно згруповані в один серотип, оскільки вони мають досить схожі імунодомінантні епітопи. Зважаючи на це, будь-який штам NDV теоретично може викликати імунну відповідь для забезпечення перехресного захисту від будь-якого іншого штаму вірусу (Aljumaili, Bello, Year, Omar, & Ideris, 2020).

Всесвітня організація охорони здоров'я тварин класифікує ньюкаслську хворобу як інфекцію домашньої птиці, спричинену вірулентними штамами вірусу хвороби Ньюкасла. Патологічний процес вражає нервову, шлунково-кишкову, ди-

хальну та репродуктивну системи птиці. Ефективний контроль цього захворювання базується на суворих заходах біозахисту, які запобігають контакту птиці з вірулентним вірусом, а також на розробленні та застосуванні якісних вакцин. На сьогодні вакцинація є загальноприйнятим методом боротьби з ньюкаслською хворобою у світі, оскільки вона допомагає обмежити поширення інфекції та мінімізувати її негативні наслідки. (Hongzhuang та ін., 2019; Alexander, 2001).

За умови правильного введення здоровій птиці вакцини проти ньюкаслської хвороби, створеної на основі низьковірулентних штамів вірусу або вірусних векторних вакцин, що експресують злитий білок вірусу, спостерігається ефективно запобігання розвитку клінічних проявів захворювання та смертності курчат після зараження вірулентним штамом (Dimitrov, Afonso, Yu, & Miller, 2017).

Висока значущість вакцинації підтверджується ринковими прогнозами: очікується, що до 2032 р. світовий ринок вакцин проти ньюкаслської хвороби сягне 577,29 млн дол. США. За оцінками експертів, середньорічний темп зростання цього сектору може становити 8,80% у період 2023—2032 рр. (Global Newcastle disease vaccine market forecast 2023—2032).

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Незважаючи на значний прогрес у діагностиці та вакцинації від ньюкаслської хвороби, це захворювання залишається серйозною загрозою для виробників птиці в усьому світі (Karczynski, Afonso, & Miller, 2013). Значне поширення інфекції та часті спалахи хвороби свідчать про те, що не всі сучасні вакцини та методи вакцинації забезпечують повний контроль над хворобою (Dimitrov, Afonso, Yu, & Miller, 2017). Це зумовлює необхідність розробки інноваційних біотехнологічних підходів, зокрема вдосконалення вакцинних препаратів і покращення стратегій біозахисту (Charkhkar та ін., 2024; Sedeik та ін., 2019).

Основною метою вакцинації з метою профілактики ньюкаслської хвороби є мінімізація або усунення клінічних проявів захворювання, зменшення кількості вірулентного вірусу, що виділяє хвора птиця та збільшення дози вірусу, що може викликати захворювання (Dimitrov, Afonso, Yu, & Miller, 2017; Karczynski, Afonso, & Miller, 2013). Введення ефективних вакцин може контролювати більшість спалахів хвороби Ньюкасла у світі. Проте повідомлялося про невдачі вакцинації живими ослабленими вакцинами через проблеми зі зберіганням і транспортуванням (Ruan та ін., 2020).

Проблеми, які виникають через спалахи захворювання, призводять до значних економічних збитків для країн в усьому світі, актуальним залишається питання біотехнологічного вдосконалення вакцин шляхом підвищення їх імуногенності за рахунок введення додаткових ад'ювантних сполук у склад вакцини і вивчення нових комбінацій застосування живих та інактивованих вакцин у схемах вакцинації поголів'я.

У дослідженні (Chansiripornchai, & Sasipreeyajan, 2006) було визначено ефективність введення комбінації живих та інактивованих вакцин проти ньюкаслської хвороби. Вводили також вакцини, виготовлені з різних штамів вірусу хвороби Ньюкасла. В ході експерименту було визначено, що залежно від штамів вірусу, з яких були виготовлені вакцини, спостерігалась контрольована стійкість до хвороби в курчат, яким вводили вакцину із штаму В1 в поєднанні з інактивованою, на рівні $68,57\% \pm 18,64$ ($P > 0,05$), тоді як у курчат, яких вакцинували препаратом зі штаму

Ulster 2С в поєднанні з інактивованою, стійкість до захворювання складала $88,57\% \pm 9,00$ ($P > 0,05$).

Ад'юванти відіграють ключову роль у складі інактивованих вакцин, оскільки вони посилюють імунну відповідь організму на введений антиген. Використання ад'ювантів також зменшує необхідну дозу антигену без втрати ефективності вакцини, що робить вакцинацію економічно вигіднішою та більш безпечною. Це особливо актуально при розробці вакцин для масового застосування, де оптимізація дозування є важливим фактором ефективності та доступності імунізації.

Вченими було продемонстровано, що використання у складі інактивованої вакцини нового ад'юванту Montanide™ ISA 71 VG, виготовленого зі збагаченої легкої мінеральної олії з очищеним емульгатором, отриманим з маніту та очищеної олеїнової кислоти рослинного походження, стимулювало як гуморальну, так і клітинну відповідь. Використання цього ад'юванту дало змогу досягти вищих титрів захисних антитіл від вірусу ньюкаслської хвороби протягом 49 днів після вакцинації порівняно зі стандартним ад'ювантом. Також було встановлено, що за стандартного введення вакцини проти ньюкаслської хвороби в об'ємі 0,3—0,5 мл, застосування зразка, створеного з використанням нового ад'юванту Montanide™ ISA 71 VG, вже у дозі 0,1 мл забезпечило повний захист та підтримку високих титрів антитіла до завершення випробування (Agous та ін., 2013).

Однією з важливих функцій ад'ювантів є пролонговане вивільнення антигену, що забезпечує тривалішу стимуляцію імунної системи та формування стійкого імунітету. Крім того, вони здатні підвищувати рівень продукції специфічних антитіл, що критично важливо для профілактики багатьох інфекційних захворювань, зокрема і ньюкаслської хвороби.

Було продемонстровано дослідження допоміжної активності частинок хітозану і фосфату кальцію, які застосовувалися як ад'юванти під час виробництва інактивованої вакцини проти вірусу ньюкаслської хвороби. Вакцину вводили інтраназально промисловим курчатам. Після триразового введення інактивованої вакцини в комбінації з хітозаном або фосфатом кальцію у зразках крові та слизових оболонках курей спостерігалось значне підвищення титрів антитіл порівняно з введенням лише антигену вірусу ньюкаслської хвороби (Volkova та ін., 2014).

Завдяки використанню ад'ювантів у складі інактивованих вакцин покращується активація антигенпрезентуючих клітин, що сприяє ефективнішому запуску адаптивного імунітету. У дослідженні (Wanasawaeng, Tawatsin, Sasipreeyajan, Poomvives, & Chansiripornchai, 2009) вивчали ефективність інактивованої вакцини проти ньюкаслської хвороби з використанням пальмової олії як ад'юванту і досліджували вплив вітаміну Е як додаткового фактора імуногенності. Також додатково вивчали фізико-хімічні показники та місцеву реакцію на введення різних типів емульсії — «вода в маслі» та «вода в маслі у воді».

Незважаючи на досягнуті результати, залишається актуальним подальше вдосконалення біотехнології інактивованих вакцин проти ньюкаслської хвороби. Зокрема, важливим напрямом є оптимізація якісного та кількісного складу ад'ювантів для забезпечення достатньої імунної відповіді та максимального рівня захисту сектору птахівництва від інфекційних захворювань.

Метою статті є дослідження впливу співвідношення масляної та водної фаз у складі на ефективність інактивованих вакцин проти ньюкаслської хвороби птиці.

Матеріали і методи. Для виготовлення дослідних зразків вакцини був використаний виробничий штам вірусу ньюкаслської хвороби «Ла-Сота», отриманий з банку штамів ТОВ «Біотестлаб». Штам був розмножений методом інокуляції в алантоїсну порожнину у ВПФ курячих ембріонах 9—11 денного віку.

Вірусомісний матеріал (антиген) напрацьовували на ВПФ курячих ембріонах 9—11 денного віку. Вірус ньюкаслської хвороби інокулювали в алантоїсну порожнину ембріонів. Культивування вірусу проводили протягом періоду до 96 год за дотримання температурних умов $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Інактивацію антигену проводили доданням розчину азиридину.

Для напрацювання вірусомісного матеріалу (антигену) та титрації активності вірусу були використані ВПФ курячі ембріони (КЕ) виробництва VALO BioMedia (Німеччина). Для імунологічної оцінки дослідних зразків вакцини використовували одностадійних ВПФ-курчат, отриманих з ВПФ курячих ембріонів.

Експериментальні заходи із залученням птиці проводили на базі віварію ТОВ «Біотестлаб». Приміщення віварію обладнані відповідно до санітарно-гігієнічних вимог (температура $19\text{—}24\text{ }^{\circ}\text{C}$, вологість не більше 50%, природне освітлення режим «день—ніч»). Протягом усього періоду спостереження всі курчата досліджуваних груп утримувались у ВПФ-боксах для ізолюваного утримання. Утримання, поїння та годівля були однакові для всіх груп курчат.

Під час проведення експерименту всі процедури з курчатами виконували з дотриманням міжнародних правил і норм біоетики.

Масляною фазою для приготування досліджуваних серій вакцини був ад'ювант, що являє собою суміш мінеральної олії (парафін рідкий) з поверхнево-активними речовинами, зокрема Спан-80 (сорбітану моноолеат) та Твін-80 (полісорбат).

Водна фаза для виготовлення емульсії типу «вода в маслі» складалася із інактивованого антигену вірусу ньюкаслської хвороби штаму «Ла-Сота» виробництва ТОВ «Біотестлаб». Концентрація у вакцині антигену вірусу до інактивації еквівалентна $10^{9,0}\text{ EID}_{50}$ (ембріональна інфекційна доза) на 1 дозу в 0,1 мл вакцини (Reed, & Muench, 1938).

Дослідні зразки вакцини готували гомогенізацією водної у масляну фазу у співвідношенні, що забезпечувало утворення стійкої емульсії типу «вода в маслі». Зразок I готували змішуванням масляної фази та водної у співвідношенні 70:30, зразок II — у співвідношенні 60:40 відповідно. Рецептури приготування дослідних серій емульсійних вакцин наведено в табл. 1.

Таблиця 1. Рецептура приготування дослідних зразків емульсійних інактивованих вакцин

Досліджувані матеріали	Масляна фаза, %	Водна фаза, %
Зразок I	70	30
Зразок II	60	40
Контроль (фосфатно-сольовий буфер)	—	100

Визначення кінематичної в'язкості проводили з використанням капілярного віскозиметра. Результат виражали у міліметрах квадратних за секунду ($\text{мм}^2/\text{с}$). Кінематична в'язкість вакцини повинна бути $\leq 200\text{ } \text{мм}^2/\text{с}$.

Однорозових ВПФ курчат розділили на 3 групи (I, II, III) по 8 голів у кожній групі (n=8). Імунізацію курчат проводили шляхом підшкірного введення 1 дози вакцини в ділянці шиї одноразово. Група I — вакцинована зразком I, група II — вакцинована зразком II. Група III — контрольна, вводили ФСБ.

Відбір крові у курчат проводили через кожні 7 днів, починаючи з 14 дня після вакцинації: через 14, 21, 28, 35 та 42 дні. Зразки крові у птахів відбирали з крилової вени у об'ємі 2,0 мл. Методом центрифугування відокремлювали сироватку крові для подальшого проведення серологічних досліджень.

Для оцінки ефективності вакцини досліджували сироватки крові курчат у реакції затримки гемаглютинації (РЗГА). Дослідження проводили згідно із загальноприйнятою методикою, рекомендованою МЕБ (OIE Terrestrial Manual, 2018). Реакція заснована на тому, що антитіла, контактуючи з вірусом (антигеном), утворюють специфічні комплекси антитіло—антиген та нейтралізують гемаглютиніни вірусу.

Отримані дані досліджень були проаналізовані в програмному забезпеченні ANOVA. Дані в таблицях представлені як $x \pm SD$ ($x \pm$ стандартне відхилення).

Викладення основних результатів дослідження. Питання удосконалення біотехнології інактивованих емульсійних вакцин шляхом вибору оптимального якісного та кількісного складу є актуальним і ключовим для забезпечення належного рівня імунної відповіді для ефективного захисту птахів та одержання якісної і безпечної продукції птахівництва.

У результаті проведених досліджень було проаналізовано вплив кількісного вмісту ад'ювантної частини у складі емульсії на ефективність інактивованої вакцини та здатність викликати імунну відповідь у курчат до вірусу ньюкаслської хвороби.

Титри антитіл у курчат на 14 день після вакцинації, визначені методом реакції затримки гемаглютинації, групи I становили 1:48, в той час як результати II групи склали 1:22. Результати титру антитіл через 21 день після вакцинації показали кількість антитіл у курчат групи I на рівні 1:96, а в групі II — 1:76. Через 28 днів після вакцинації кількісні показники титру антитіл збільшились до значень 1:128 у курчат групи I та 1:104 у курчат групи II. Через 35 днів після вакцинації середні значення антитіл були визначені на рівні 1:224 у курчат групи I та 1:160 у курчат групи II. Через 42 дні після вакцинації титри антитіл у курчат групи I становили 1:168, у курчат групи II — 1:108.

Показники титру антитіл у сироваток крові курчат контрольної групи протягом всього періоду дослідження були на рівні 1:0.

Вже на 14 добу після вакцинації у всіх досліджуваних зразках сироватки крові у 16 курчат (100% вакцинованої птиці) було виявлено формування антитіл на захисному рівні. В той час у всіх невакцинованих курчат групи III (100% невакцинованої птиці) протягом усього періоду дослідження формування антитіл не спостерігалось.

У табл. 2 наведено результати визначення рівня антитіл у сироватках крові в досліджуваних груп птахів після вакцинації в реакції затримки гемаглютинації.

Отже, наявність антитіл на захисному рівні на 14 добу після вакцинації у 100% курчат обох груп свідчить про ефективність вакцин. Більшої ефективності вдалося досягти за умови використання зразку, який містив 70% масляної і 30% водної

фази. Зважаючи на дані досліджень, що спрямовані на підсилення імунної відповіді на введення вакцин, збільшення кількості масляної фази позитивно впливає на формування антитіл, збільшуючи ступінь захисту організму порівняно зі зразком, що містить меншу кількість мінерального масла у складі вакцини.

Таблиця 2. Результати кількісного визначення середнього рівня антитіл у сироватках крові курчат після введення вакцини в реакції затримки гемаглютинації ($x \pm SD$, $n=8$)

Група курчат	Період після вакцинації, діб				
	14	21	28	35	42
I	48±37	96±75	128±59	224±59	168±76
II	22±8	76±34	104±68	160±59	108±38
III	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0

Примітка: наведені значення — це значення \pm стандартні відхилення при $P < 0,05$.

Таким чином, у нашому дослідженні було підтверджено, що підвищення вмісту масляної фази (до 70%) позитивно корелює з посиленням імунної відповіді, що виражається у вищих титрах антитіл протягом усього періоду спостереження. Це узгоджується з результатами інших авторів, які вказують на те, що масляна фаза діє як депо-система для антигену, подовжуючи його презентацію і тим самим сприяючи тривалішій і стійкій імунній відповіді. Зокрема, за даними дослідження (Kars та ін., 2023), ефективність інактивованих масляно-емульгованих вакцин може бути надійно оцінена як *in vivo* (за титрами антитіл та PD50), так й *in vitro* методами (ELISA з визначенням кількості HN-білка). Авторами роботи був встановлений високий ступінь кореляції між результатами *in vivo* та ELISA-методу ($r^2 = 0,93$), що підтверджує об'єктивність серологічних показників як індикаторів імунної ефективності вакцини.

У нашому експерименті, як і у згаданому дослідженні, спостерігалось формування стійкої імунної відповіді у всіх вакцинованих птахів вже на 14 добу, що підтверджує ранню активність вакцини. Поступове зростання титрів антитіл до піку на 35 добу та подальше зниження на 42 добу є типовою динамікою пост-вакцинального імунітету, про що також згадується у роботі (Dharmayanti та ін., 2024), автори якої підкреслюють роль ад'ювантів та складу емульсій у стабілізації імуногенної дії вакцин при боротьбі з NDV у птахівничих господарствах Індонезії.

Результати визначення кінематичної в'язкості досліджуваного нами зразка I вакцини були на рівні 50...52 mm^2/c , що нижче порівняно із результатами зразка II — 80...81 mm^2/c (табл. 3). Рецептури обох досліджуваних зразків емульсійних інактивованих вакцин забезпечували прийнятний рівень результату за показником «Кінематична в'язкість» відносно до встановленого критерію $\leq 200 \text{ m}^2/\text{c}$ при $P < 0,05$. За даними (Акмугзаєв та ін., 2025), при вмісті масляної фази на рівні 70% отримано близькі результати — в'язкість становила 39 mm^2/c , що підтверджує ефективність формули з підвищеним вмістом олійного компонента. Такий рівень в'язкості забезпечує достатню текучість препарату і сприяє легкому його проходженню через ін'єкційну голку. Узагальнюючи, варто відзначити, що збільшення концентрації мінерального масла в складі вакцини сприяє зменшенню в'язкості емульсії, що є бажаним для оптимізації процесу введення.

БІОТЕХНОЛОГІЇ

Таблиця 3. Результати визначення кінематичної в'язкості дослідних зразків емульсійних вакцин ($x \pm SD$)

Досліджувані матеріали	Термін спостереження	Час, с	Кінематична в'язкість, $\leq 200 \text{ мм}^2/\text{с}$
Зразок I	0 місяців	165,7 \pm 0,8	50 \pm 0,6
	2 місяці	172,6 \pm 1,0	52 \pm 0,6
Зразок II	0 місяців	247,0 \pm 2,3	80 \pm 0,6
	2 місяці	251,1 \pm 0,6	81 \pm 0,6

Примітка: Випробування проводили при 20 °С, вологості 45%. Наведені значення — це значення \pm стандартні відхилення при $P < 0,05$.

Отже, результати вимірювання кінематичної в'язкості свідчать про практичну зручність використання зразка вакцини з більшим вмістом масла. Нижчий рівень в'язкості забезпечує кращу інжекційну властивість вакцини, що є важливим фактором для масового щеплення птиці.

Висновки

У результаті проведених досліджень встановлено, що кількісний вміст ад'ювантної частини у складі емульсії інактивованої вакцини суттєво впливає на ефективність формування імунної відповіді до вірусу ньюкаслської хвороби.

1. Аналіз динаміки титрів антитіл у курчат після вакцинації показав, що у групі I (зразок I з вищим вмістом масляної фази) титри антитіл були вищими на всіх етапах дослідження порівняно з групою II (зразок II з нижчим вмістом масляної фази). Найвищі значення спостерігались через 35 днів після вакцинації (1:224 у групі I та 1:160 у групі II). На 42-й день після вакцинації рівень антитіл у групі I знизився до 1:168, а у групі II — до 1:108.

2. У контрольній групі (група III) протягом усього періоду дослідження антитіла до ньюкаслської хвороби не виявлялись та залишались на рівні 1:0, що підтверджує відсутність специфічної імунної відповіді без застосування вакцини.

3. Вже на 14-у добу після вакцинації у 100% курчат обох груп було виявлено антитіла на захисному рівні, що свідчить про ефективність вакцин.

4. Визначення кінематичної в'язкості дослідних зразків вакцин показало, що зразок II мав вищі значення (80—81 $\text{мм}^2/\text{с}$) порівняно із зразком I (50—52 $\text{мм}^2/\text{с}$). Обидва зразки відповідали встановленому критерію прийнятної кінематичної в'язкості ($\leq 200 \text{ мм}^2/\text{с}$ при $P < 0,05$), що забезпечує належну текучість вакцини та її легке введення через голку під час вакцинації.

Отримані результати є підґрунтям для розроблення біотехнології інактивованих емульсійних вакцин з оптимізованим складом з метою підвищення їх ефективності у профілактиці ньюкаслської хвороби у птиці.

Література

Akmyrzayev, N., Ryskeldinova, S. R., Mailybayeva, A., Kozhamkulov, Y., Sagymbayeva, A., Myrzakhetov, Y., ..., & Assanzhanova, N. (2025). Phylogenetic Analysis of Newcastle Disease Virus and Its Potential in Vaccine Development. <https://doi.org/10.3390/vaccines13050440>.

- Aljumaili, O. A., Bello, M. B., Yeap, S. K., Omar, A. R., & Ideris, A. (2020). Protective efficacy of inactivated Newcastle disease virus vaccines prepared in two different oil-based adjuvants. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 87(1), 1—7. <https://doi.org/10.4102/ojvr.v87i1.1865>.
- Alexander, D. J. (2001). Newcastle disease. *British poultry science*, 42(1), 5—22. <https://doi.org/10.1080/713655022>.
- Alexander, D. J., Aldous, E. W., & Fuller, C. M. (2012). The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian pathology*, 41(4), 329—335. <https://doi.org/10.1080/03079457.2012.697991>.
- Aly, S. E., Hussein, H. A., Aly, A. H. M., Abdel-Baky, M. H., & El-Sanousi, A. A. (2018). Assessment of in vitro potency of inactivated Newcastle disease oil-adjuvanted vaccines using hemagglutination test and blocking ELISA. *Veterinary world*, 11(9), 1222. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.1222-1228>.
- Amarasinghe, G. K., Bào, Y., Basler, C. F., Bavari, S., Beer, M., Bejerman, N., ..., & Kuhn, J. H. (2017). Taxonomy of the order Mononegavirales: update 2017. *Archives of virology*, 162, 2493—2504. <https://doi.org/10.1007/s00705-017-3311-7>.
- Arous, J. B., Deville, S., Pal, J. K., Baksi, S., Bertrand, F., & Dupuis, L. (2013). Reduction of Newcastle disease vaccine dose using a novel adjuvant for cellular immune response in poultry. *Procedia in Vaccinology*, 7, 28—33. <https://doi.org/10.1016/j.provac.2013.06.006>.
- Bello, M. B., Yusoff, K. M., Ideris, A., Hair-Bejo, M., Peeters, B. P., Jibril, A. H., ..., & Omar, A. R. (2018). Genotype diversity of Newcastle disease virus in Nigeria: Disease control challenges and future outlook. *Advances in Virology*, 1, 6097291. <https://doi.org/10.1155/2018/6097291>.
- Cahyani, J. I., Widyarini, S., & Wibowo, M. H. (2020). Comparative safety and efficacy of two bivalent vaccines containing Newcastle disease LaSota and avian influenza H9N2 Sidrap isolate formulated with different oil adjuvants. *Veterinary World*, 13(11), 2493. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2493-2501>.
- Chansiripornchai, N., & Sasipreeyajan, J. (2006). Efficacy of live B1 or Ulster 2C Newcastle disease vaccines simultaneously vaccinated with inactivated oil adjuvant vaccine for protection of Newcastle disease virus in broiler chickens. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 48, 1—4. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-48-2>.
- Charkhkar, S., Bashizade, M., Sotoudehnejad, M., Ghodrati, M., Bulbuli, F., & Akbarein, H. (2024). The evaluation and importance of Newcastle disease's economic loss in commercial layer poultry. *Journal of Poultry Sciences and Avian Diseases*, 2(1), 1—4. <https://doi.org/10.61838/kman.jpdsad.2.1.1>.
- De Leeuw, O. S., Koch, G., Hartog, L., Ravenshorst, N., & Peeters, B. P. (2005). Virulence of Newcastle disease virus is determined by the cleavage site of the fusion protein and by both the stem region and globular head of the haemagglutinin–neuraminidase protein. *Journal of General Virology*, 86(6), 1759—1769. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80822>.
- Dharmayanti, N. I., Nurjanah, D., Nuradji, H., Suyatno, T., & Indriani, R. (2023). Newcastle disease virus: The past and current situation in Indonesia. *Journal of Veterinary Science*, 25(1), e3. <https://doi.org/10.4142/jvs.23022>.
- Dimitrov, K. M., Ramey, A. M., Qiu, X., Bahl, J., & Afonso, C. L. (2016). Temporal, geographic, and host distribution of avian paramyxovirus 1 (Newcastle disease virus). *Infection, genetics and evolution*, 39, 22—34. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.01.008>.
- Dimitrov, K. M., Afonso, C. L., Yu, Q., & Miller, P. J. (2017). Newcastle disease vaccines — A solved problem or a continuous challenge? *Veterinary microbiology*, 206, 126—136. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.12.019>.
- Global Newcastle disease vaccine market forecast 2023—2032. [Электронный ресурс] Режим доступа: https://www.inkwoodresearch.com/reports/newcastle-disease-vaccine-market/?srsltid=AfmBOor777qA9p4zzOzpBQBbCbPRtceulZg_jji5titLQU-Nh41fWu19.
- Gogoi, P., Ganar, K., & Kumar, S. (2017). Avian paramyxovirus: a brief review. *Transboundary and emerging diseases*, 64(1), 53—67. <https://doi.org/10.1111/tbed.12355>.

- Hongzhan, Z., Ying, T., Xia, S., Jinsong, G., Zhenhua, Z., Beiyu, J., Yanyan, C., Lulu, L., Jue, Z., Bing, Y., & Jing, F. (2020). Preparation of the inactivated Newcastle disease vaccine by plasma activated water and evaluation of its protection efficacy. *Applied microbiology and biotechnology*, 104, 107—117. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10106-8>.
- Jeon, W. J., Lee, E. K., Lee, Y. J., Jeong, O. M., Kim, Y. J., Kwon, J. H., & Choi, K. S. (2008). Protective efficacy of commercial inactivated Newcastle disease virus vaccines in chickens against a recent Korean epizootic strain. *Journal of veterinary science*, 9(3), 295—300. <https://doi.org/10.4142/jvs.2008.9.3.295>.
- Kapczynski, D. R., Afonso, C. L., & Miller, P. J. (2013). Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. *Developmental & Comparative Immunology*, 41(3), 447—453. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2013.04.012>.
- Kars, M., Tekintaş, Y., Çöven, F., Dakman, A., Öztürk, İ., İçin, S., & Limoncu, M. H. (2023). Determination of efficacy in inactive Newcastle disease vaccines with an in-vitro method as an alternative to in-vivo methods. *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 80(1). <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2023.84704>.
- Ogali, I. N., Okumu, P. O., Mungube, E. O., Lichoti, J. K., Ogada, S., Moraa, G. K., Agwanda, B. R., & Ommeh, S. C. (2020). Genomic and pathogenic characteristics of virulent Newcastle disease virus isolated from chicken in live bird markets and backyard flocks in Kenya. *International Journal of Microbiology*, 2020(1), 4705768. <https://doi.org/10.1155/2020/4705768>.
- Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Hygiene*, 27(3), 493—497.
- Ruan, B., Liu, Q., Chen, Y., Niu, X., Wang, X., Zhang, C., Guo, M., Zhang, X., Cao, Y., & Wu, Y. (2020). Generation and evaluation of a vaccine candidate of attenuated and heat-resistant genotype VIII Newcastle disease virus. *Poultry Science*, 99(7), 3437—3444. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.01.034>.
- Sedeik, M. E., Elbestawy, A. R., El-Shall, N. A., Abd El-Hack, M. E., Saadeldin, I. M., & Swe-lum, A. A. (2019). Comparative efficacy of commercial inactivated Newcastle disease virus vaccines against Newcastle disease virus genotype VII in broiler chickens. *Poultry science*, 98(5), 2000—2007. <https://doi.org/10.3382/ps/pey559>.
- Vijayarani, K., Muthusamy, S., Tirumurugaan, K. G., Sakthivelan, S. M., & Kumanan, K. (2010). Pathotyping of a Newcastle disease virus isolated from peacock (*Pavo cristatus*). *Tropical animal health and production*, 42, 415—419. <https://doi.org/10.1007/s11250-009-9436-2>.
- Volkova, M. A., Irza, A. V., Chvala, I. A., Frolov, S. F., Drygin, V. V., & Kapczynski, D. R. (2014). Adjuvant effects of chitosan and calcium phosphate particles in an inactivated Newcastle disease vaccine. *Avian diseases*, 58(1), 46—52. <https://doi.org/10.1637/10510-020413-Reg.1>.
- Wanasawaeng, W., Tawatsin, A., Sasipreeyajan, J., Poomvises, P., & Chansiripornchai, N. (2009). Development of inactivated Newcastle disease vaccine using palm oil as an adjuvant. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 39(1), 9—16. <https://doi.org/10.56808/2985-1130.2160>.