

Оригинальная статья / Original article

УДК 578.432

DOI: 10.18470/1992-1098-2026-1-2



Исследование биологических свойств диких штаммов вируса болезни Ньюкасла, выделенных на территории России в период с 2018 по 2021

Вероника С. Коваленко, Любовь С. Адаменко, Ксения С. Юрченко, Юрий И. Каркавин, Александр В. Глущенко

Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия

Контактное лицо

Вероника С. Коваленко, м.н.с.,
ФГБНУ «Федеральный исследовательский
центр фундаментальной и трансляционной
медицины»; 630060 Россия, г. Новосибирск,
ул. Тимакова, 2.

Тел. +79528069303

Email kovalenskova.00@yandex.ru

ORCID <https://orcid.org/0009-0005-8655-9220>

Формат цитирования

Коваленко В.С., Адаменко Л.С., Юрченко К.С.,
Каркавин Ю.И., Глущенко А.В. Исследование
биологических свойств диких штаммов вируса
болезни Ньюкасла, выделенных на территории
России в период с 2018 по 2021 // Юг России:
экология, развитие. 2026. Т.21, N 1. С. 14-30.
DOI: 10.18470/1992-1098-2026-1-2

Получена 16 ноября 2025 г.

Прошла рецензирование 20 декабря 2025 г.

Принята 25 декабря 2025 г.

Резюме

Вирус болезни Ньюкасла (ВБН) остаётся значимым патогеном птиц, при этом дикие мигрирующие виды играют ключевую роль в его циркуляции и межрегиональном переносе. Цель исследования – изучить биологические свойства штаммов ВБН, выделенных от диких птиц России, с акцентом на их репликативную активность и цитотоксическое действие в отношении опухолевых клеточных линий млекопитающих.

В 2018–2021 гг. были собраны образцы от диких водоплавающих птиц, проведена изоляция вируса на куриных эмбрионах, определены титры в РГА и на клетках VeroE6. Для оценки цитотоксичности 19 штаммов использовали клеточные линии HeLa, SW13, RD, SKBR3, HEp-2 и A549. Жизнеспособность клеток анализировали методом МТТ. Штаммы демонстрировали значительную вариабельность репликативной и цитотоксической активности. Наиболее выраженный цитопатический эффект отмечен в клетках SW-13 и RD, тогда как линии SKBR-3, HeLa и HEp-2 проявляли более низкую чувствительность. Выделены штаммы с высоким и низким цитотоксическим потенциалом.

Полученные данные подтверждают биологическую неоднородность природных изолятов ВБН и их различную способность к взаимодействию с клетками млекопитающих, что важно для оценки эпизоотического риска и дальнейшего изучения онколитического потенциала вируса.

Ключевые слова

Вирус болезни Ньюкасла, дикие птицы, цитопатическое действие, опухолевые клеточные линии, репликация вируса.

Biological characterization of wild Newcastle disease virus strains Isolated in Russia between 2018 and 2021

Veronika S. Kovalenko, Lyubov S. Adamenko, Kseniya S. Yurchenko, Yuri I. Karkavin
and Alexandra V. Glushchenko

Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

Principal contact

Veronika S. Kovalenko, PhD, Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; 2 Timakova St., Novosibirsk, Russia 630060.
Tel. +79528069303
Email kovalenkova.00@yandex.ru
ORCID <https://orcid.org/0009-0005-8655-9220>

How to cite this article

Kovalenko V.S., Adamenko L.S., Yurchenko K.S., Karkavin Yu.I., Glushchenko A.V. Biological characterization of wild Newcastle disease virus strains Isolated in Russia between 2018 and 2021. *South of Russia: ecology, development*. 2026; 21(1):14-30. (In Russ.) DOI: 10.18470/1992-1098-2026-1-2

Received 16 November 2025

Revised 20 December 2025

Accepted 25 December 2025

Abstract

Newcastle disease virus (NDV) continues to be a significant pathogen of avian species, with wild migratory birds playing a pivotal role in its circulation and interregional dissemination. This study aimed to investigate the biological characteristics of NDV strains isolated from wild birds in Russia, focusing on their replication efficiency and cytotoxic activity against mammalian tumor cell lines.

Between 2018 and 2021, 92 samples were collected from wild waterfowl, and viruses were subsequently isolated in embryonated chicken eggs. Viral titers were determined using hemagglutination assays and VeroE6 cell cultures. Cytotoxicity of 19 NDV strains was evaluated on HeLa, SW13, RD, SKBR3, HEp-2, and A549 cell lines. Cell viability was assessed using the MTT assay.

The NDV strains exhibited substantial variability in both replication and cytotoxic activity. The most pronounced cytopathic effects were observed in SW13 and RD cells, whereas SKBR3, HeLa, and HEp-2 cells displayed lower sensitivity. Strains with both high and low cytotoxic potential were identified, reflecting the heterogeneity of the isolates.

These findings highlight the biological diversity of natural NDV isolates and their differential interactions with mammalian cells, which is relevant for assessing epizootic risk and exploring the virus's potential as an oncolytic agent.

Key Words

Newcastle disease virus, wild birds, cytopathic effect, tumor cell lines, viral replication.

ВЕДЕНИЕ

Вирус болезни Ньюкасла (ВБН), или *Orthoavulavirus avian 1* (семейство Paramyxoviridae, род *Orthoavulavirus*), является одним из наиболее значимых патогенов птиц, вызывающих тяжёлые экономические потери в птицеводстве по всему миру. Болезнь характеризуется высокой контагиозностью, поражением дыхательной, пищеварительной и нервной систем птиц [1; 2]. Несмотря на активное применение вакцин, вспышки болезни продолжают регистрироваться в различных странах, что указывает на сохранение циркуляции вируса в природных условиях и возможность заноса вирулентных штаммов в хозяйства [3].

ВБН характеризуется широким кругом хозяев: вирус поражает более 250 видов птиц, включая представителей отрядов Galliformes, Columbiformes, Anseriformes, Charadriiformes и других [4]. Особую эпидемиологическую роль играют дикие мигрирующие птицы, выступающие в качестве естественных резервуаров вируса. Они способствуют его циркуляции и переносу на значительные расстояния, в том числе между континентами [5; 6]. Результаты мониторинговых исследований последних лет свидетельствуют о том, что в популяциях диких птиц циркулируют преимущественно низковирулентные (лентигенные) изоляты, однако среди них периодически выявляются и вирулентные варианты, относящиеся к генотипам VII и XIII, представляющие эпизоотическую опасность [7].

На территории России вирус болезни Ньюкасла регистрируется как у домашней, так и у дикой птицы, особенно в регионах, расположенных вдоль основных миграционных путей – Сибири, Якутии, Приморья, Камчатки и Сахалина [8]. Изоляция новых штаммов от диких птиц в этих районах представляет собой важный элемент мониторинга, позволяющий отслеживать эволюцию вируса, пути его распространения и возможное формирование новых генетических вариантов. Несмотря на проводимые исследования, биологические свойства изолятов ВБН, полученных от диких птиц России, остаются изученными недостаточно, особенно в отношении их репликативной активности в различных культурах клеток и возможного цитопатогенного действия.

Современные работы показывают, что некоторые штаммы ВБН, особенно относящиеся к генотипу VII, способны реплицироваться в опухолевых клетках млекопитающих и проявлять цитопатогенные эффекты вне основного хозяина [9]. Эти наблюдения требуют дополнительного изучения, так как биологическая активность природных изолятов может указывать на их эволюционные адаптации и изменение спектра хозяев. В частности, выявление цитотоксической активности вируса в отношении опухолевых клеточных линий представляет интерес не только с точки зрения ветеринарной вирусологии, но и с позиций фундаментальной биологии вирус-клетка.

Таким образом, актуальность настоящего исследования определяется необходимостью изучения биологических свойств штаммов ВБН, выделенных от диких птиц на территории России, что позволит оценить уровень их биологической активности, уточнить их эпизоотическую роль и потенциальное влияние на циркуляцию вируса в природных и антропогенных популяциях птиц.

Задачи исследования:

1. Провести выделение и идентификацию штаммов ВБН из биоматериала, полученного от диких птиц.
2. Оценить репликативную активность выделенных изолятов в реакции гемагглютинации и культуре клеток Vero.
3. Проанализировать видовую принадлежность и географическое распределение источников изоляции вируса.
4. Определить цитотоксическую активность отобранных штаммов в отношении опухолевых клеточных линий методом МТТ.
5. Провести сравнительный анализ полученных данных с результатами других исследований для оценки биологических особенностей выделенных штаммов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сбор образцов

В период с 2018 по 2021 гг. были проведены полевые работы по сбору биологического материала от диких птиц на территории России. Отбор проб осуществлялся в районах, расположенных вдоль основных миграционных путей водоплавающих и околоводных птиц (Новосибирская область, Республика Бурятия, Приморский край, Таймыр, Сахалин, Омская область, Амурская область, Якутия). От каждой особи отбирали мазки из клоаки. Пробы помещали в транспортную среду с антибиотиками и антимикотиками (пенициллин – 1000 ЕД/мл, стрептомицин – 1 мг/мл, гентамицин – 0,5 мг/мл) и хранили при температуре -70°C до момента исследования.

Изоляция вируса

Выделение ВБН проводили методом заражения 9–10-дневных куриных эмбрионов (КЭ) в аллантаисную полость согласно стандартным методикам. После 72–96 ч инкубации при 37°C аллантаисную жидкость отбирали и исследовали на наличие гемагглютинирующей активности. Образцы, давшие положительный результат в реакции гемагглютинации (РГА), подвергали дополнительному очищению и повторным пассажам до получения стабильных изолятов.

Определение инфекционного титра в РГА

Гемагглютинирующую активность изолятов определяли микрометодом в 96-луночных планшетах с использованием 1 % суспензии эритроцитов кур. Титр выражали в логарифмах обратного разведения, соответствующего последнему разведенному образцу, вызывающему полную гемагглютинацию (Log_2 ГАЕ).

Определение инфекционной активности на клетках VeroE6

Для оценки способности изолятов реплицироваться в клетках млекопитающих использовали клеточную линию Vero (почка зелёной марышки, *Cercopithecus aethiops*). Клетки культивировали в среде ДМЕМ с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (FBS) при 37°C в атмосфере 5 % CO_2 . Инфекционный титр определяли методом 10-кратных последовательных разведений с регистрацией цитопатического действия (ЦПД). Расчёт титра выполняли по методу Рида и Менча и выражали в логарифмах $\text{TCID}_{50}/\text{мл}$.

Отбор штаммов для дальнейших исследований

На основании результатов определения титров в РГА и на клетках VeroE6 были отобраны штаммы, проявлявшие высокую репликативную активность и стабильность при пассажах. Для последующего исследования биологических свойств, включая цитотоксическую активность, выбраны 19 штаммов, выделенных из различных видов диких птиц: Свиязь (*Mareca penelope*), Касатка (*Mareca falcata*), Лысуха (*Fulica atra*), Широконоска (*Spatula clypeata*), Чирок-свистун (*Anas crecca*), Утка серая (*Mareca strepera*), Шилохвость (*Anas acuta*), Чайка серебристая (*Larus argentatus*), Чирок-трескун (*Spatula querquedula*).

Опухолевые клеточные культуры

Для оценки цитотоксической активности вируса использовали 6 опухолевых клеточных линий: карциному шейки матки человека HeLa, мелкоклеточной карциномы коры надпочечника человека SW-13, рабдомиосаркомы человека RD, рака молочной железы человека SKBR3, эпидермоидной карциномы гортани человека HEP-2 и аденокарцинома альвеолярных базальных эпителиальных клеток человека A549.

Клетки культивировали в среде ДМЕМ с добавлением 10 % FBS при 37 °C в атмосфере 5 % CO₂.

Оценка цитотоксической активности (МТТ-тест)

Цитотоксическую активность вирусных штаммов в отношении опухолевых клеток определяли по методу Mosmann с использованием МТТ-теста. Клетки засеивали в 96-луночные планшеты (2×10⁵ кл/луночку) и инфицировали вирусом в разведении, соответствующем 1 ТЦД₅₀ на клетку. После 48–72 ч инкубации вносили МТТ (5 мг/мл), инкубировали 4 ч при 37 °C, после чего осадок формазана растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО). Оптическую плотность

измеряли при 570 нм на микропланшетном фотометре. Процент жизнеспособности клеток рассчитывали относительно неинфицированного контроля.

Статистическая обработка данных

Все эксперименты проводили в трёх биологических повторах и трёх технических репликах. Результаты представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение. Статистическую обработку данных выполняли в программе STATISTICA 9.0. Для сравнения групп однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В течение исследуемого периода (2018–2021 гг.) на территории Российской Федерации регистрировались случаи циркуляции вируса болезни Ньюкасла (ВБН) среди диких птиц. Согласно официальным данным Россельхознадзора и региональных лабораторий, при мониторинге орнитофауны в ряде регионов страны регулярно выявлялись изоляты серотипа АPMV-1, преимущественно лентигенные или вакциноподобные штаммы [10]. Данные наблюдения согласуются с результатами международных исследований, указывающих на то, что в природных условиях среди диких птиц циркулируют преимущественно низковирулентные формы вируса, обеспечивающие его длительное сохранение в экосистеме [11].

Географическое распределение и видовой состав проб

В ходе проведённого исследования получены данные по биоматериалу, собранному от диких птиц в ряде регионов России (рис. 1).



Цифрами на карте обозначены / The numbers on the map indicate:

1. Новосибирская область, 2. Республика Бурятия, 3. Приморский край, 4. Таймырский автономный округ, 5. Сахалин, 6. Омская область, 7. Амурская область, 8. Республика Саха (Якутия), 9. Республика Дагестан

1. Novosibirsk Region, 2. Republic of Buryatia, 3. Primorye Territory, 4. Taimyr Peninsula, 5. Sakhalin, 6. Omsk Region, 7. Amur Region, 8. Republic of Sakha (Yakutia), 9. Republic of Dagestan

Рисунок 1. Карта мест сбора проб: Новосибирская область, Республика Бурятия, Приморский край, Таймыр, Сахалин, Омская область, Амурская область, Республика Саха (Якутия), Республика Дагестан

Figure 1. Map of field sample collection sites: Novosibirsk Region, Republic of Buryatia, Primorye Territory, Taimyr Peninsula, Sakhalin, Omsk Region, Amur Region, Republic of Sakha (Yakutia), Republic of Dagestan

В выборку вошли представители 12 видов диких водоплавающих и околоводных птиц, в том числе: Свиязь (*Mareca penelope*), Касатка (*Mareca falcata*), Лысуха (*Fulica atra*), Широконоска (*Spatula clypeata*), Чирок-свиистунок (*Anas crecca*), Утка серая (*Mareca strepera*), Шилохвость (*Anas acuta*), Чайка серебристая (*Larus argentatus*), Чирок-трескунук (*Spatula querquedula*), Кряква обыкновенная (*Anas platyrhynchos*), Кряква черная (*Anas zonorhyncha*), Хохлатая чернеть (*Aythya fuligula*).

Подобная видовая структура проб соответствует ранее описанным результатам эпизоотологического мониторинга, согласно которым дикие утки и

околоводные виды играют ключевую роль в циркуляции ВБН в природных биотопах Сибири и Дальнего Востока [12]. Эти виды часто переносят вирус бессимптомно, что подтверждает их значение как естественных резервуаров и возможных переносчиков вирулентных вариантов в популяции домашней птицы [4].

Выделенные штаммы ВБН и их биологическая характеристика

Из исследованных образцов было выделено 92 отличающихся по генотипу вирусных изолятов, подтверждённых по серотипу АРМВ-1 (табл. 1).

Таблица 1. Собранные штаммы ВБН: цитопатическое действие на клетках VeroE6 и титр РГА

Table 1. Collected NDV strains: cytopathic effect on VeroE6 cells and HA titer

Штамм Strain	Птица, вид Bird, species	Год Year	Регион Region	Титр РГА HA Titer	ЦПД VeroE6 CPE VeroE6
NDV/common teal/Amur region/Russia/105b/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Амурская область Amur Region	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/common teal/Amur region/Russia/17b/2019	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2019	Амурская область Amur Region	512 ГАЕ / 512 HAU	-
NDV/common teal/Amur region/Russia/8b/2019	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2019	Амурская область Amur Region	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/common teal/Buryatia/Russia/27i/2018	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2018	Республика Бурятия Republic of Buryatia	64 ГАЕ / 64 HAU	2,80
NDV/common teal/Buryatia/Russia/28i/2019	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2019	Республика Бурятия Republic of Buryatia	-	3,20
NDV/common teal/Buryatia/Russia/5i/2018	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2018	Республика Бурятия Republic of Buryatia	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/common teal/Lake Chany/Russia/36/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Новосибирская область, оз. Чаны Novosibirsk Region, Chany lake	32 ГАЕ / 32 HAU	-
NDV/common teal/Novosibirsk region/2143k/Russia/2019	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2019	Новосибирская область, Карасук Novosibirsk Region, Karasuk	-	-
NDV/common teal/Primorje/Russia/188/2019	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2019	Приморский край Primorye Territory	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/common teal/Sakhalin/Russia/100c/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Сахалин Sakhalin	64 ГАЕ / 64 HAU	3,00
NDV/common teal/Sakhalin/Russia/111c/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Сахалин Sakhalin	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/common teal/Sakhalin/Russia/130c/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Сахалин Sakhalin	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/common teal/Sakhalin/Russia/163c/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Сахалин Sakhalin	16 ГАЕ / 16 HAU	-
NDV/common teal/Sakhalin/Russia/59c/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Сахалин Sakhalin	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/common teal/Sakhalin/Russia/76c/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Сахалин Sakhalin	128 ГАЕ / 128 HAU	-

NDV/common teal/Sakhalin/Russia/OD30/2019	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2019	Сахалин Sakhalin	512 ГАЕ / 512 HAU	-
NDV/common teal/Sakhalin/Russia/PIL4/2019	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2019	Сахалин Sakhalin	512 ГАЕ / 512 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/12/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/126/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/130/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	32 ГАЕ / 32 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/173/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/28x/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/39/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	32 ГАЕ / 32 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/39x/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/40x/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/42x/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/45/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/55x/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/58x/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/60/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	16 ГАЕ / 16 HAU	-
NDV/common teal/Yakutia/Russia/89x/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	8 ГАЕ / 8 HAU	-
NDV/common teal/Omsk region/O85/Russia/2021	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2021	Омская область Omsk Region	128 ГАЕ / 128 HAU	3,80
NDV/Eurasian coot/Novosibirsk region/Russia/928/2018	Лысуха <i>Fulica atra</i>	2018	Новосибирская область, Карасук Novosibirsk	64 ГАЕ / 64 HAU	2,30

			Region, Karasuk		
NDV/European herring gull/Taimyr peninsula/Russia/11k/2020	Чайка серебристая <i>Larus argentatus</i>	2020	Таймыр Тауыр Peninsula	-	4,30
NDV/European herring gull/Taimyr peninsula/Russia/17k/2020	Чайка серебристая <i>Larus argentatus</i>	2020	Таймыр Тауыр Peninsula	8 ГАЕ / 8 HAU	1,40
NDV/European herring gull/Taimyr peninsula/Russia/18k/2020	Чайка серебристая <i>Larus argentatus</i>	2020	Таймыр Тауыр Peninsula	32 ГАЕ / 32 HAU	-
NDV/European herring gull/Taimyr peninsula/Russia/19k/2020	Чайка серебристая <i>Larus argentatus</i>	2020	Таймыр Тауыр Peninsula	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/European herring gull/Yakutia/Russia/8/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/119/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/13/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/150/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/175/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/23/2020	Связь / <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/53/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/75/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/75x/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/76x/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/77/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/77x/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/79/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	32 ГАЕ / 32 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/80/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	32 ГАЕ / 32 HAU	-

NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/83/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/85/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	16 ГАЕ / 16 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/86/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	32 ГАЕ / 32 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/87/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/European wigeon/Yakutia/Russia/91/2020	Связь <i>Anas penelope</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	32 ГАЕ / 32 HAU	-
NDV/falckated duck/Buryatia/Russia/10i/2018	Касатка <i>Mareca falcata</i>	2018	Республика Бурятия Republic of Buryatia	512 ГАЕ / 512 HAU	1,50
NDV/gadwall/Amur region/97b/2020	Утка серая <i>Mareca strepera</i>	2020	Амурская область Amur Region	-	-
NDV/gadwall/Amur region/Russia/4b/2020	Утка серая <i>Mareca strepera</i>	2020	Амурская область Amur Region	-	-
NDV/gadwall/Amur region/Russia/5b/2019	Утка серая <i>Mareca strepera</i>	2019	Амурская область Amur Region	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/gadwall/Buryatia/Russia/2210/2019	Утка серая <i>Mareca strepera</i>	2019	Республика Бурятия Republic of Buryatia	-	2,10
NDV/gadwall/Omsk region/O25/Russia/2021	Утка серая <i>Mareca strepera</i>	2021	Омская область Omsk Region	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/gadwall/Omsk region/O4/Russia/2021	Утка серая <i>Mareca strepera</i>	2021	Омская область Omsk Region	16 ГАЕ / 16 HAU	2,50
NDV/garganey/Novosibirsk region/5068k/Russia/2021	Чирок-трескунок <i>Spatula querquedula</i>	2021	Новосибирская область, Карасук Novosibirsk Region, Karasuk	-	1,00
NDV/garganey/Omsk region/O131/Russia/2021	Чирок-трескунок <i>Spatula querquedula</i>	2021	Омская область Omsk Region	16 ГАЕ / 16 HAU	1,00
NDV/garganey/Yakutia/Russia/177/2020	Чирок-трескунок <i>Spatula querquedula</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/garganey/Yakutia/Russia/5/2020	Чирок-трескунок <i>Spatula querquedula</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/mallard/Amur region/Russia/120b/2020	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2020	Амурская область Amur Region	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/mallard/Buryatia/Russia/96i/2019	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2019	Республика Бурятия Republic of Buryatia	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/mallard/Dagestan/Russia/28d/2019	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2019	Республика Дагестан Republic of	32 ГАЕ / 32 HAU	-

Daghestan					
NDV/mallard/Novosibirsk region/5132k/Russia/2021	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2021	Новосибирская область, Карасук Novosibirsk Region, Karasuk	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/mallard/Omsk region/O6/Russia/2021	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2021	Омская область Omsk Region	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/mallard/Primorje/Russia/249/2019	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2019	Приморский край Primorye Territory	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/mallard/Primorje/Russia/34/2019	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2019	Приморский край Primorye Territory	256 ГАЕ / 256 HAU	-
NDV/mallard/Primorje/Russia/51/2019	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2019	Приморский край Primorye Territory	512 ГАЕ / 512 HAU	-
NDV/mallard/Yakutia/Russia/140/2020	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	512 ГАЕ / 512 HAU	-
NDV/mallard/Yakutia/Russia/18/2020	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/mallard/Yakutia/Russia/20x/2020	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/mallard/Yakutia/Russia/4/2020	Кряква обыкновенная <i>Anas platyrhynchos</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/northern pintail/Novosibirsk region/Russia/513k/2018	Шилохвость <i>Anas acuta</i>	2018	Новосибирская область, Карасук Novosibirsk Region, Karasuk	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/northern pintail/Primorje/Russia/319/2019	Шилохвость <i>Anas acuta</i>	2019	Приморский край Primorye Territory	256 ГАЕ / 256 HAU	2,20
NDV/shoveler/Buryatia/Russia/52i/2018	Широконоска <i>Spatula clypeata</i>	2018	Республика Бурятия Republic of Buryatia	128 ГАЕ / 128 HAU	1,70
NDV/shoveler/Yakutia/Russia/20/2020	Широконоска <i>Spatula clypeata</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/shoveler/Yakutia/Russia/32/2020	Широконоска <i>Spatula clypeata</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	512 ГАЕ / 512 HAU	-
NDV/shoveler/Yakutia/Russia/73/2020	Широконоска <i>Spatula clypeata</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/spot-billed duck/Primorje/Russia/39/2019	Кряква черная <i>Anas zonorhyncha</i>	2019	Приморский край Primorye Territory	128 ГАЕ / 128 HAU	-
NDV/teal/Omsk region/O145/Russia/2021	Чирок-свистунук <i>Anas crecca</i>	2021	Омская область Omsk Region	64 ГАЕ / 64 HAU	2,60
NDV/teal/Omsk region/O164/Russia/2021	Чирок-свистунук <i>Anas crecca</i>	2021	Омская область Omsk Region	-	1,00
NDV/tufted duck/Yakutia/Russia/6x/2020	Чернеть хохлатая <i>Aythya fuligula</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	64 ГАЕ / 64 HAU	-
NDV/wigeon/Lake	Связь	2018	Новосибирская	64 ГАЕ /	3,75

Chany/Russia/40yu/2018	<i>Anas penelope</i>		область, оз. Чаны Novosibirsk Region, Chany lake	64 HAU	
NDV/shoveler/Yakutia/Russia/71/2020	Широконоска <i>Spatula clypeata</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	6,20
NDV/tufted duck/Yakutia/Russia/36x/2020	Чернеть хохлатая <i>Aythya fuligula</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	32 ГАЕ / 32 HAU	4,45

Анализ происхождения изолятов показал, что штаммы с высокими титрами и выраженным ЦПД чаще выделялись от птиц, принадлежащих к миграционным маршрутам Восточно-Азиатско-Австралазийского пролёта, в частности – от уток, добытых на Сахалине, в Приморском крае и на территории Республики Саха (Якутия). Эти данные подтверждают гипотезу о межрегиональном переносе вируса мигрирующими видами и согласуются с результатами аналогичных наблюдений в Китае и Казахстане [4; 13].

Таким образом, миграционные потоки диких птиц могут способствовать сохранению и рекомбинации генетически разнородных штаммов ВБН, что повышает вероятность появления новых вариантов

вируса, потенциально опасных для домашних популяций птиц.

Обоснование отбора штаммов для культивирования на опухолевых культурах

Из всех отобранных проб 19 штаммов проявили выраженное ЦПД в культуре клеток VeroE6 (табл. 2). Визуально ЦПД характеризовался округлением и отслоением клеток, что указывает на активную репликацию вируса и высокий уровень вирулентности *in vitro*. Полученные данные свидетельствуют о том, что среди циркулирующих изолятов диких птиц присутствуют вирусы с повышенной репликативной способностью, потенциально способные вызывать эпизоотические вспышки [14].

Таблица 2. Штаммы ВБН из коллекции 2018–2021 года сбора с выраженным ЦПД

Table 2. NDV strains from the 2018–2021 collection with pronounced CPE

Штамм Strain	Птица, вид Bird, species	Год Year	Регион Region	Титр РГА HA Titer	ЦПД VeroE6 CPE VeroE6
NDV/shoveler/Yakutia/ Russia/71/2020	Широконоска <i>Spatula clypeata</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	128 ГАЕ / 128 HAU	6,20
NDV/tufted duck/Yakutia/Russia /36x/2020	Чернеть хохлатая <i>Aythya fuligula</i>	2020	Республика Саха (Якутия) Republic of Sakha (Yakutia)	32 ГАЕ / 32 HAU	4,45
NDV/European herring gull/ Taimyr peninsula/ Russia/11k/2020	Чайка серебристая <i>Larus argentatus</i>	2020	Таймыр Taymyr Peninsula	-	4,30
NDV/common teal/Omsk region/O85/Russia/2021	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2021	Омская область Omsk Region	128 ГАЕ / 128 HAU	3,80
NDV/wigeon/Lake Chany/Russia/40yu/2018	Свиязь <i>Anas penelope</i>	2018	Новосибирская область, оз. Чаны Novosibirsk Region, Chany lake	64 ГАЕ / 64 HAU	3,75
NDV/common teal/Buryatia/Russia /28i/2019	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2019	Республика Бурятия Republic of Buryatia	-	3,20
NDV/common teal/Sakhalin/Russia /100c/2020	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2020	Сахалин Sakhalin	64 ГАЕ / 64 HAU	3,00
NDV/common teal/Buryatia/Russia /27i/2018	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2018	Республика Бурятия Republic of Buryatia	64 ГАЕ / 64 HAU	2,80
NDV/teal/Omsk region/O145/Russia/2021	Чирок-свиистунок <i>Anas crecca</i>	2021	Омская область Omsk Region	64 ГАЕ / 64 HAU	2,60
NDV/Eurasian coot /Novosibirsk region/Russia/928/2018	Лысуха <i>Fulica atra</i>	2018	Новосибирская область, Карасук Karasuk,	64 ГАЕ / 64 HAU	2,30

Novosibirsk Region					
NDV/northern pintail/Primorje/Russia/319/2019	Шилохвость <i>Anas acuta</i>	2019	Приморский край Primorye Territory	256 ГАЕ / 256 HAU	2,20
NDV/gadwall/Buryatia/Russia/2210/2019	Утка серая <i>Mareca strepera</i>	2019	Республика Бурятия Republic of Buryatia	-	2,10
NDV/shoveler/Buryatia/Russia/52i/2018	Широконоска <i>Spatula clypeata</i>	2018	Республика Бурятия Republic of Buryatia	128 ГАЕ / 128 HAU	1,70
NDV/falckated duck/Buryatia/Russia/10i/2018	Касатка <i>Mareca falcata</i>	2018	Республика Бурятия Republic of Buryatia	512 ГАЕ / 512 HAU	1,50
NDV/European herring gull/Taimyr peninsula/Russia/17k/2020	Чайка серебристая <i>Larus argentatus</i>	2020	Таймыр Taymyr Peninsula	8 ГАЕ / 8 HAU	1,40
NDV/garganey/Omsk region/O131/Russia/2021	Чирок-трескунок <i>Spatula querquedula</i>	2021	Омская область Omsk Region	16 ГАЕ / 16 HAU	1,00
NDV/teal/Omsk region/O164/Russia/2021	Чирок-свистунок <i>Anas crecca</i>	2021	Омская область Omsk Region	-	1,00
NDV/garganey/Novosibirsk region/5068k/Russia/2021	Чирок-трескунок <i>Spatula querquedula</i>	2021	Новосибирская область, Карасук Karasuk, Novosibirsk Region	-	1,00
NDV/gadwall/Omsk region/O4/Russia/2021	Утка серая <i>Mareca strepera</i>	2021	Омская область Omsk Region	16 ГАЕ / 16 HAU	2,50

Интересно отметить, что не все изоляты с выраженным ЦПД демонстрировали высокие титры в РГА. Это расхождение может объясняться особенностями взаимодействия вирусных белков с эритроцитарными рецепторами: известно, что активность гемагглютинаина-нейраминидазы (HN) не всегда коррелирует с уровнем репликации вируса в клеточной культуре [15]. В некоторых случаях низкий титр в РГА может отражать мутации в области связывания HN-белка, не влияющие на общую вирусную продуктивность, но уменьшающие эффективность агглютинации эритроцитов.

Для дальнейшего анализа цитотоксической активности были отобраны 19 штаммов, соответствующих следующим критериям: высокий титр в РГА и/или на клетках Vero, а также стабильность при повторных пассажах.

Такой подход согласуется с рекомендациями FAO и OIE по отбору изолятов для углубленного фенотипического анализа [16]. Он позволяет сосредоточиться на штаммах, демонстрирующих максимальный биологический потенциал и представляющих интерес для изучения как с эпизоотологической, так и с вирусологической точки зрения.

Обоснование выбора опухолевых клеточных линий

Для изучения возможной цитотоксической активности отобранных штаммов ВБН использовались опухолевые клеточные линии различных гистогенетических типов: HeLa, SW-13, RD, SKBR3, HEp-2, A549. Использование указанных линий обусловлено тем, что они обладают различной степенью чувствительности к вирусным инфекциям и применяются в качестве стандартных моделей для оценки онколитической активности вирусов [17]. Согласно литературным данным, некоторые штаммы ВБН способны проявлять онколитические свойства, вызывая лизис опухолевых клеток млекопитающих при отсутствии выраженной репликации в нормальных клетках [18; 19]. Это делает их перспективными для дальнейших исследований в области экспериментальной виротерапии.

Описание цитотоксической активности штаммов в опухолевых клетках (МТТ-тест)

Оценка цитопатического действия выделенных изолятов ВБН проводилась с использованием МТТ-теста на клеточной линии, относящейся к клеткам млекопитающих (человека). Целью данного анализа являлась сравнительная характеристика степени воздействия различных штаммов ВБН на метаболическую активность клеток, что отражает уровень их репликативной активности и цитотоксического потенциала в гетерологичной клеточной системе.

В исследовании использовано 17 штаммов ВБН, которые показали высокие титры РГА или ЦПД на клетках VeroE6 с сохранением стабильного показателя активности вируса в нескольких пассажах. Каждый штамм тестировался в пяти последовательных разведениях на клетках SW13. Средние значения жизнеспособности клеток (в процентах относительно контроля) варьировали от 12,6 % до 145,1 %, что указывает на значительную межштаммовую вариабельность цитопатического эффекта (рис. 2).

В целом, при высоких концентрациях вируса (разведения -1 и -2) наблюдалось достоверное снижение жизнеспособности клеток – в среднем до 65 % от контроля, что свидетельствует о выраженной цитотоксичности ряда изолятов. При увеличении разведения вируса (до -3 и выше) активность снижалась, и жизнеспособность клеток восстанавливалась до 90–100 %, что типично для дозозависимой реакции клеток на вирусную нагрузку.

Наиболее выраженное снижение показателей жизнеспособности клеток наблюдалось при действии штаммов: NDV/northern pintail/Primorje/Russia/319/2019; NDV/eurasian coot/Novosibirsk region/Russia/928/2018; NDV/common teal/Omsk region/O85/Russia/2021, для которых при первых двух разведениях жизнеспособность клеток составляла менее 40–45 %. Эти изоляты характеризуются повышенной цитопатогенностью, что может быть связано с особенностями строения их поверхностных гликопротеинов (HN и F), обеспечивающих эффективное слияние с мембраной клеток млекопитающих и быструю индукцию апоптоза [20].

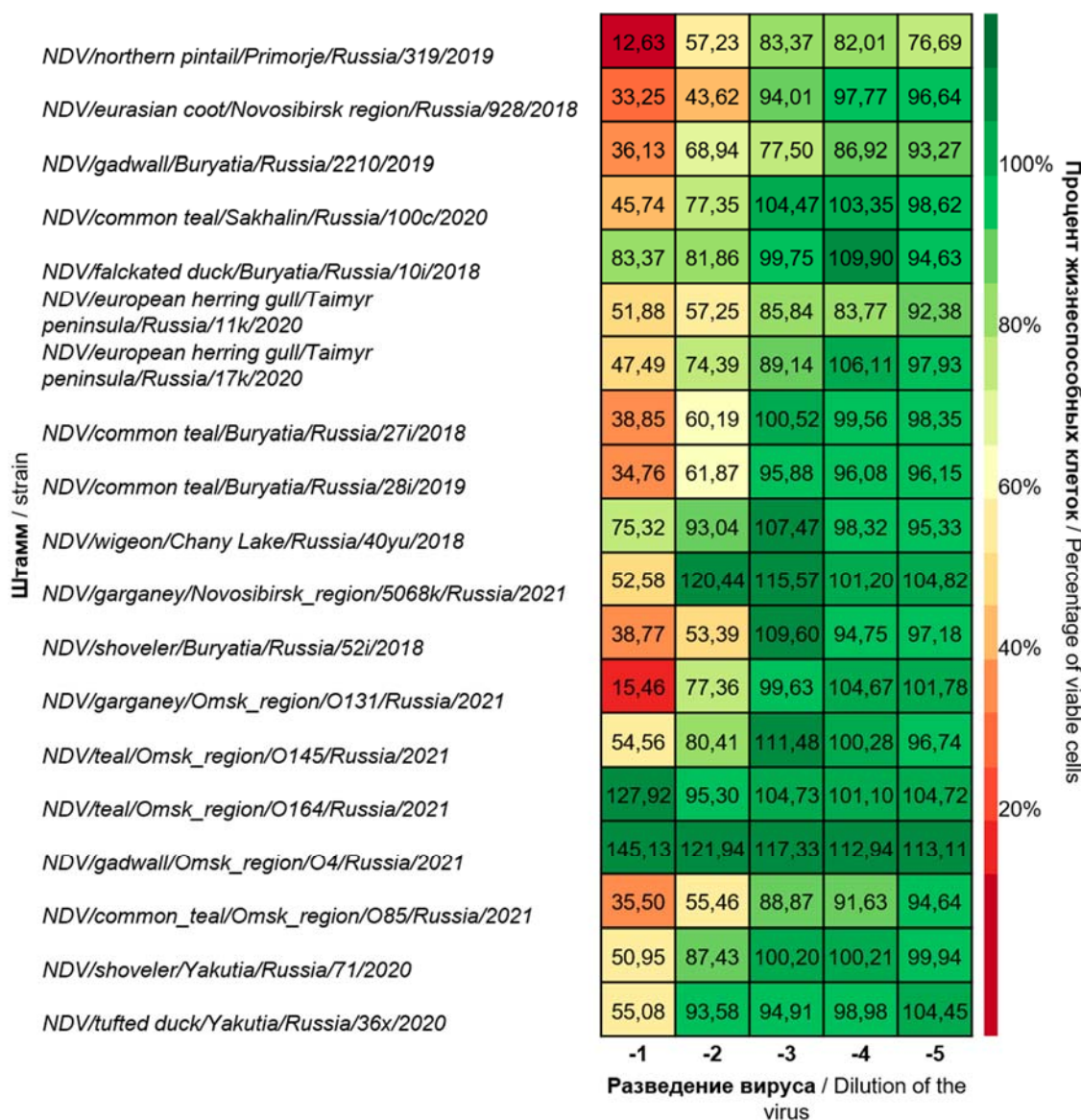


Рисунок 2. Цитотоксическая активность штаммов ВБН на клеточной линии SW13
Figure 2. Cytotoxic activity of NDV strains on the SW13 cell line

Напротив, штаммы *NDV/gadwall/Omsk_region/O4/Russia/2021*, *NDV/teal/Omsk_region/O164/Russia/2021*, *NDV/garganey/Novosibirsk_region/5068k/Russia/2021* демонстрировали слабое цитопатическое действие, а в отдельных случаях даже незначительное повышение метаболической активности клеток (>110 % от контроля), что может указывать на низкую репликативную активность или адаптацию данных изолятов к иным типам клеток.

Анализ цитотоксической активности штаммов ВБН на клеточной линии RD выявил выраженные различия между изолятами как по силе цитолитического действия, так и по его дозозависимости. Для ряда штаммов (*NDV/northern pintail/Primorje/319/2019* и *NDV/common teal/Sakhalin/100c/2020*) наблюдалось резкое подавление жизнеспособности клеток в высоких концентрациях (разведения 10^{-1} – 10^{-2}) при заметном восстановлении клеточной популяции при низких дозах вируса. Это указывает на выраженный острофазный цитопатический эффект при высоком уровне вирусной нагрузки (рис. 3).

Однако изоляты *NDV/european herring gull/Taimyr peninsula/17k/2020* и *NDV/teal/Omsk_region/O145/2021*

демонстрировали относительно стабильное сохранение низкого уровня цитотоксичности во всех исследованных разведениях, включая высокие концентрации. Подобный профиль можно интерпретировать как более слабое взаимодействие вируса с рецепторным аппаратом клеток RD или особенности его внутриклеточной репликации, не приводящие к быстрому лизису клеток.

Группа штаммов, включая *NDV/shoveler/Buryatia/52i/2018*, *NDV/garganey/Novosibirsk_region/5068k/2021* и *NDV/common teal/Buryatia/27i/2018*, демонстрировала промежуточный тип реакции, при котором в диапазоне разведений 10^{-1} – 10^{-3} отмечалась умеренная цитотоксичность с постепенным восстановлением жизнеспособности клеток по мере снижения дозы вируса. Это предполагает сбалансированное взаимодействие вируса с клетками, что, вероятно, отражает как особенности тропизма, так и различия в кинетике репликации.

Наиболее восприимчивой к ЦПД штаммов ВБН оказалась клеточная линия A549. В случае воздействия вируса в высоких концентрациях наблюдалось значительное подавление клеточного роста (рис. 4).

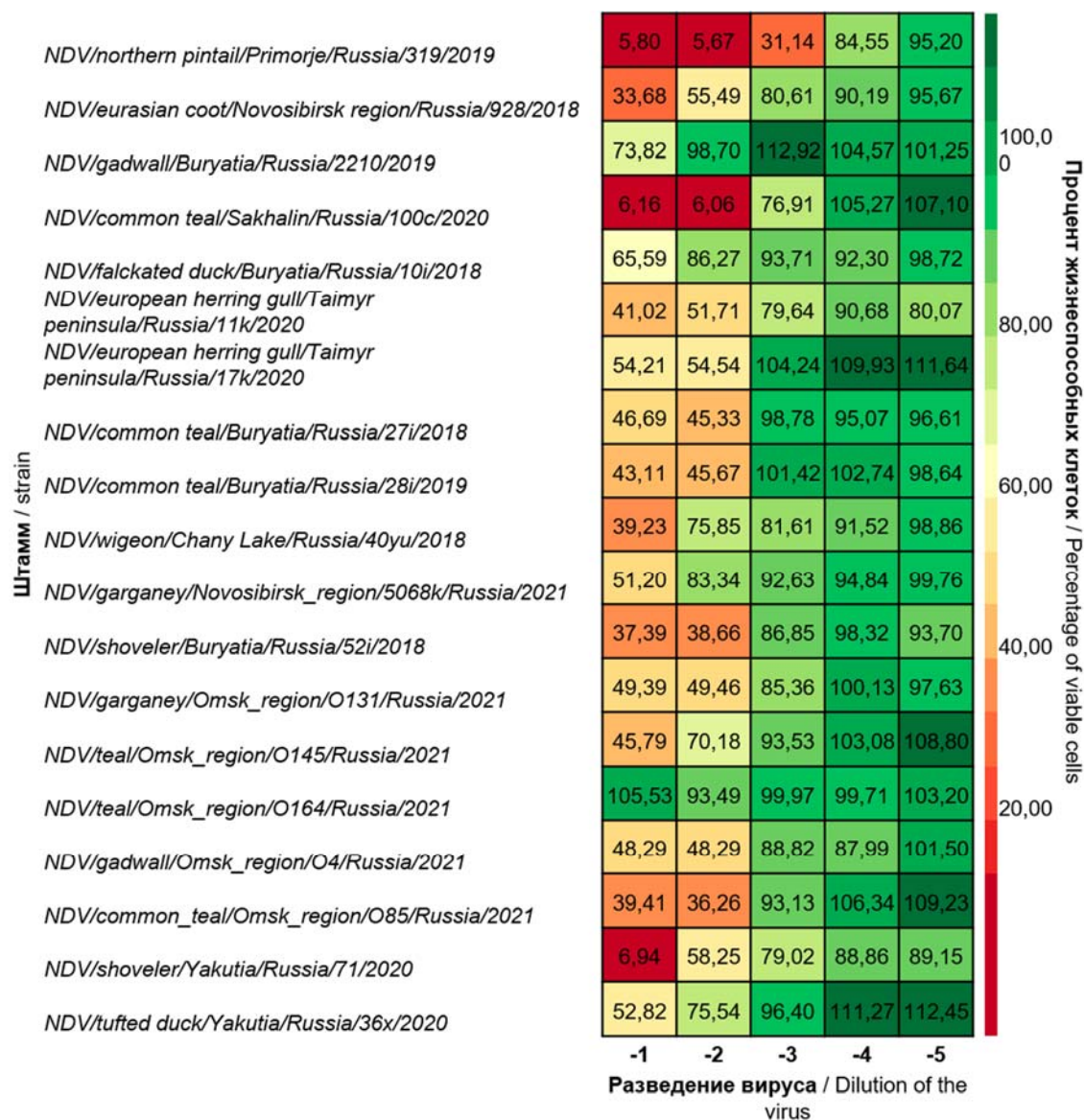


Рисунок 3. Цитотоксическая активность штаммов ВБН на клеточной линии RD
Figure 3. Cytotoxic activity of NDV strains on the RD cell line

На клеточной линии A549 наблюдалась выраженная зависимость чувствительности клеток к инфицированию различными штаммами ВБН, при этом выявленные закономерности в значительной степени воспроизводили тенденции, ранее описанные для культур SW-13 и RD. Наиболее интенсивный ЦПД был зарегистрирован при инфицировании штаммами NDV/northern pintail/Primorje/Russia/319/2019, NDV/eurasian coot/Novosibirsk region/Russia/928/2018, NDV/common teal/Sakhalin/Russia/100c/2020, NDV/falckated duck/Buryatia/Russia/10i/2018, NDV/european herring gull/Taimyr peninsula/Russia/11k/2020, NDV/wigeon/Chany Lake/Russia/40yu/2018 и NDV/teal/Omsk_region/O145/Russia/2021. Эти штаммы демонстрировали стабильную способность индуцировать гибель клеток даже при значительных разведениях, что может указывать на высокую эффективность вирусного проникновения и репликации, а также на потенциально усиленную активность F- и HN-белков, обеспечивающих слияние мембран и дальнейшее распространение вируса в культуре.

Следует отметить, что в системе A549 выраженность ЦПД в целом была выше по сравнению с SW-13 и RD, что согласуется с данными литературы о повышенной восприимчивости эпителиальных клеток лёгких к ВБН вследствие активной продукции интерферона I типа и вовлечения митохондриальных апоптотических путей, которые могут усиливать вирус-опосредованную гибель клеток.

В то же время ряд штаммов проявил минимальный или практически отсутствующий цитопатический эффект. К этой группе относились NDV/common teal/Buryatia/Russia/28i/2019, NDV/garganey/Novosibirsk_region/5068k/Russia/2021, NDV/common_teal/Omsk_region/O85/Russia/2021 и NDV/tufted duck/Yakutia/Russia/36x/2020. Вероятно, низкий ЦПД в A549 обусловлен либо сниженной способностью этих изолятов к эффективной репликации в клетках эпителиального происхождения, либо особенностями взаимодействия вирусных гликопротеинов с рецепторным аппаратом A549, что ограничивает ранние этапы инфицирования и дальнейшее распространение вирусной инфекции [21].

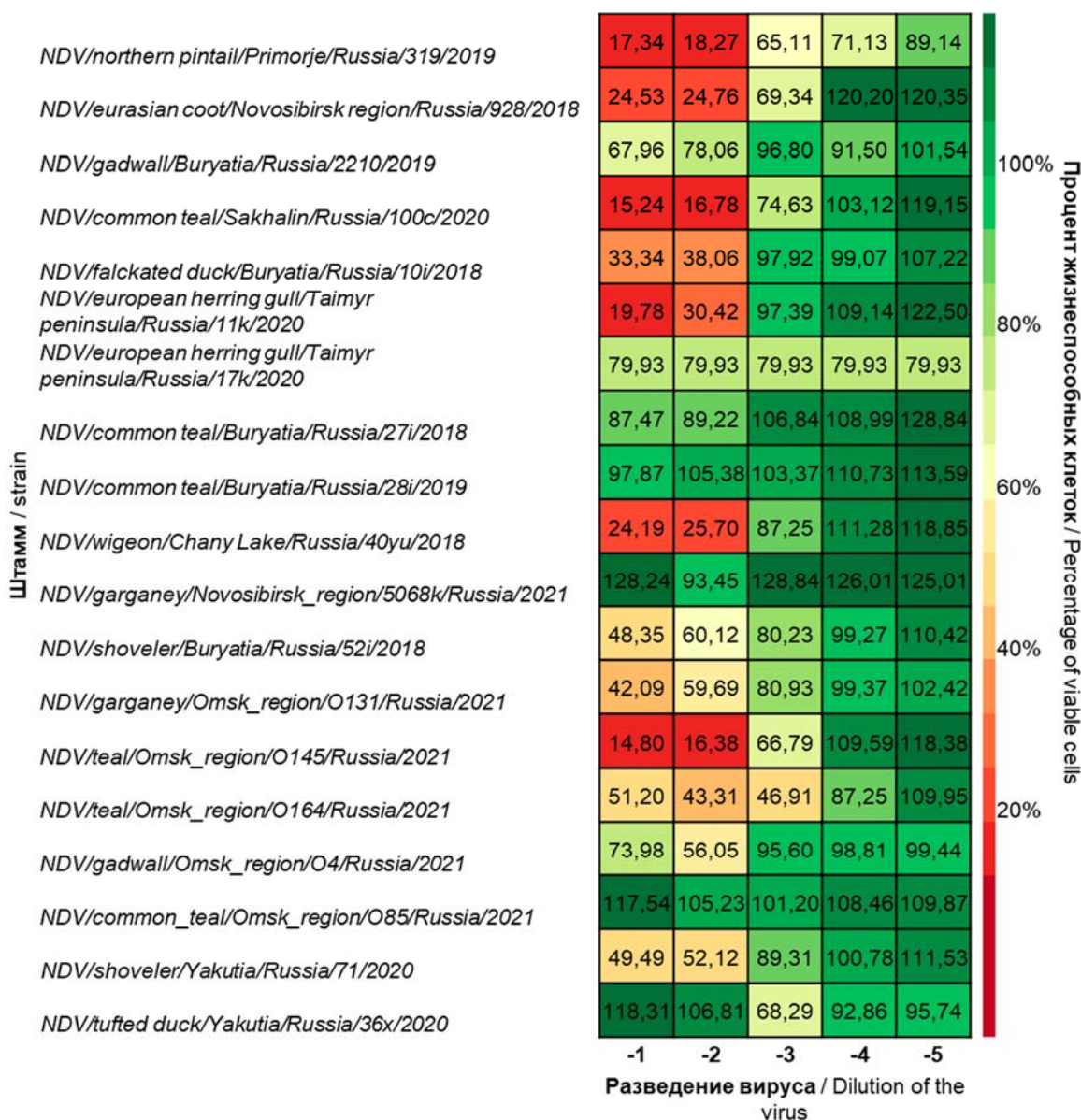


Рисунок 4. Цитотоксическая активность штаммов ВБН на клеточной линии A549

Figure 4. Cytotoxic activity of NDV strains on the A549 cell line

В отличие от клеточных линий RD, SW-13 и A549, где для ряда штаммов наблюдалось выраженное снижение жизнеспособности клеток уже при высоких концентрациях вируса, на линиях SKBR-3, HeLa и HEP-2 цитопатическое действие было менее выраженным.

На клетках SKBR-3 большинство исследованных штаммов ВБН вызывали умеренное снижение жизнеспособности клеток при высоких дозах вируса (разведения -1 и -2), однако начиная с разведения

-3 уровень метаболической активности клеток стабилизировался на уровне 80–100%. Это указывает на эффективные механизмы клеточной компенсации и восстановления, а также на сниженную чувствительность данной линии к переработке вирусного материала и апоптотической сигнализации, по сравнению с более уязвимыми линиями RD и SW-13 (табл. 3).

Таблица 3. Перечень штаммов без проявления ЦПД в отношении опухолевых линий SKBR-3, HeLa и HEP-2

Table 3. List of strains without CPE in relation to the tumor lines SKBR-3, HeLa and HEP-2

Клеточная линия Cell Line	Штаммы с полным отсутствием ЦПД Strains with Complete Absence of CPE
SKBR-3	NDV/european herring gull/Taimyr peninsula/Russia/17k/2020
	NDV/teal/Omsk_region/O164/Russia/2021
	NDV/tufted duck/Yakutia/Russia/36x/2020
HeLa	NDV/gadwall/Buryatia/Russia/2210/2019
	NDV/tufted duck/Yakutia/Russia/36x/2020
HEP-2	NDV/gadwall/Buryatia/Russia/2210/2019
	NDV/tufted duck/Yakutia/Russia/36x/2020

Клеточная линия HeLa также продемонстрировала ограниченную восприимчивость к большинству штаммов. В ряде случаев даже при высокой концентрации вируса сохранялось до 70–90 % жизнеспособных клеток. Это согласуется с литературными данными, согласно которым HeLa-клетки имеют высокую устойчивость к активации каспазного апоптоза, что может ограничивать эффективность вирус-опосредованной гибели клеток и, соответственно, выраженность цитопатического эффекта [22].

На клетках HEp-2 наблюдалась промежуточная чувствительность: для некоторых штаммов фиксировалось умеренное снижение жизнеспособности (до 60–70 %) в высоких концентрациях вируса, однако в дальнейшем отмечалось выравнивание ответа при низких разведениях. Это указывает на то, что эффективность репликации ВБН в HEp-2 ограничена, вероятно, вследствие активного интерферонового и врождённого противовирусного ответа.

Слабовыраженная цитотоксичность на SKBR-3, HeLa и HEp-2 отражает естественную биологию большинства диких изолятов ВБН, которые сохраняют орнитотропность и ограниченную способность к репликации в клетках млекопитающих.

Обнаруженная вариабельность цитотоксического эффекта среди исследованных штаммов отражает широкий спектр биологических свойств ВБН, присущих изолятам, выделенным от диких птиц. Это соответствует ранее опубликованному данным о высокой генетической и фенотипической неоднородности природных штаммов [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования установлено, что штаммы ВБН, выделенные от диких водоплавающих птиц различных регионов России, демонстрируют значительную вариабельность цитотоксического действия в отношении опухолевых клеточных линий млекопитающих. Наиболее выраженный ЦПД регистрировался на клетках линии SW13, тогда как на SKBR-3 наблюдалось умеренное снижение жизнеспособности, а на клетках HeLa цитотоксическое действие было минимальным или отсутствовало.

Выявленные различия в чувствительности клеточных линий отражают особенности их противовирусной защиты и позволяют предположить, что способность штаммов ВБН индуцировать клеточную гибель в культурах млекопитающих определяется сочетанием факторов: эффективности репликации вируса, состояния интерферонового ответа в клетке-хозяине и уровня дисрегуляции апоптотических механизмов. Кластеризация полученных данных позволила выделить группы штаммов с близкими биологическими свойствами, что подтверждает их природное эволюционное различие и адаптацию к специфическим эколого-географическим нишам.

Таким образом, исследованные штаммы ВБН представляют собой биологически неоднородную группу вирусов, сохраняющих характерную для орнитотропных вирусов низкую репликативную активность в клетках человека и вариативную степень цитотоксичности в опухолевых клетках. Полученные результаты имеют значение для дальнейшего изучения механизмов взаимодействия штаммов ВБН с клетками

млекопитающих, оценки их потенциальной безопасности, а также определения критериев выбора штаммов для углубленного биологического и функционального анализа.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа выполнена при поддержке гранта «Создание актуальной коллекции современных вирусов болезни Ньюкасла (ВБН) для разработки иммунологических биопрепаратов» РНФ № 24-24-00367.

ACKNOWLEDGMENT

The work was supported by the Russian Science Foundation grant, Creation of an Up-To-Date Collection of Modern Newcastle Disease Viruses (NDV) for the Development of Immunological Biological Products» RSF № 24-24-00367.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Malik Y.S. et al. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses // Role of Birds in Transmitting Zoonotic Pathogens. Singapore: Springer Singapore. 2021. С. 79–91. https://doi.org/10.1007/978-981-16-4554-9_6
2. Ariyama N. et al. Avian orthoavulavirus 1 (Newcastle Disease virus) antibodies in five penguin species, Antarctic peninsula and Southern Patagonia // Transboundary and Emerging Diseases. 2021. V. 68. N 6. P. 3096–3102. <https://doi.org/10.1111/tbed.14037>
3. Samad A. et al. Newcastle disease in poultry, its diagnosis, prevention and control strategies // Int. J. Med. Phar. Drug Re. 2022. V. 6. Iss. 6. P. 25–28. <https://doi.org/10.22161/IJMPD.6.2.3>
4. Murashkina T. et al. Avian influenza virus and avian paramyxoviruses in wild waterfowl of the western coast of the Caspian Sea (2017–2020) // Viruses. 2024. V. 16. N 4. P. 598. doi: 10.3390/v16040598
5. Afonso C.L. Virulence during Newcastle disease viruses cross species adaptation // Viruses. 2021. V. 13. N 1. P. 110. doi: 10.3390/v13010110
6. Kanwal A. et al. Role of wild birds in spreading potential zoonotic diseases in poultry // Zoonosis. Uni Sci Pub. Faisalabad. Pakistan. 2023. V. 1. P. 530–540.
7. Derko A. et al. Detection of a novel gull-like clade of Newcastle disease virus and H3N8 avian influenza virus in the Arctic region of Russia (Taimyr Peninsula) // Viruses. 2025. V. 17. N 7. P. 955. doi: 10.3390/v17070955
8. Глущенко А.В. и др. О роли диких птиц в сохранении и распространении птичьего парамиксовируса серотипа 1 (вирус болезни Ньюкасла) на территории Сибири и Дальнего востока, Россия // Юг России: экология, развитие. 2016. Т. 11. N 2. С. 50–58. <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2016-2-50-58>
9. Zhou J. et al. Recent advancements in the diverse roles of polymerase-associated proteins in the replication and pathogenesis of Newcastle disease virus // Veterinary Research. 2025. V. 56. N 1. P. 8.
10. Guseva N.A. et al. Analysis of avian orthoavulavirus 1 detected in the Russian Federation between 2017 and 2021 // Vaccines. 2023. V. 11. N 6. P. 1032.
11. Perlas A. et al. Persistence of low pathogenic avian influenza virus in artificial streams mimicking natural conditions of waterfowl habitats in the Mediterranean climate // Science of the Total Environment. 2023. V. 863. Article ID: 160902.

12. Karamendin K., Kydyrmanov A. Cormorants as a potentially important reservoir and carrier of Newcastle disease virus on the Asian continent // *Frontiers in Veterinary Science*. 2021. V. 8. Article ID: 648091.
13. Amoia C.F. et al. Genomic diversity and geographic distribution of Newcastle disease virus genotypes in Africa: implications for diagnosis, vaccination, and regional collaboration // *Viruses*. 2024. V. 16. N 5. P. 795.
14. Nooruzzaman M. et al. Genetic and biological characterization of Newcastle disease viruses circulating in Bangladesh during 2010–2017: further genetic diversification of class II genotype XIII in Southcentral Asia // *Journal of General Virology*. 2021. V. 102. N 3. Article ID: 001554.
15. Zhang D., Ding Z., Xu X. Pathologic mechanisms of the Newcastle disease virus // *Viruses*. 2023. V. 15. N 4. P. 864.
16. Maciel C. World Organisation for Animal Health // *Elgar Concise Encyclopedia of Animal Law*. 2025. P. 446.
17. Каркавин Ю.И. и др. Противоопухолевый эффект штамма вируса болезни Ньюкасла NDV/Altai/pigeon/777/2010 на модели солидной карциномы Льюиса // *Юг России: экология, развитие*. 2024. Т. 19. N 3. С. 44–54. doi: 10.18470/1992-1098-2024-3-4
18. Yurchenko K.S. et al. Oncolytic virotherapy with mesogenic Newcastle disease virus for Lewis lung carcinoma // *Cell and Tissue Biology*. 2025. V. 19. N 4. P. 347–357.
19. Huang F. et al. Development of molecular mechanisms and their application on oncolytic Newcastle disease virus in cancer therapy // *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2022. V. 9. Article ID: 889403.
20. Lu X. et al. The haemagglutinin–neuraminidase protein of velogenic Newcastle disease virus enhances viral infection through NF- κ B-mediated programmed cell death // *Veterinary Research*. 2024. V. 55. N 1. P. 58.
21. Bian J. et al. Caspase- and p38-MAPK-dependent induction of apoptosis in A549 lung cancer cells by Newcastle disease virus // *Archives of virology*. 2011. V. 156. N 8. P. 1335–1344.
22. Chandrasekaran A.P. et al. YM155 sensitizes HeLa cells to TRAIL-mediated apoptosis via cFLIP and survivin downregulation // *Oncology Letters*. 2020. V. 20. N 4. P. 72.
23. Miller P.J. et al. Identification of new sub-genotypes of virulent Newcastle disease virus with potential panzootic features // *Infection, genetics and evolution*. 2015. V. 29. P. 216–229.
- REFERENCES**
1. Malik Y.S., Arun Prince Milton A., Ghatak S., Ghosh S. Newcastle Disease and Other Avian Paramyxoviruses. *Role of Birds in Transmitting Zoonotic Pathogens. Livestock Diseases and Management*. Springer, Singapore, 2021, pp. 79–91. https://doi.org/10.1007/978-981-16-4554-9_6
2. Ariyama N., Tapia R., Godoy C., Agüero B., Valdés V., Berrios F., García Borboroglu P., Pütz K., Alegria R., Barriga G.P., Medina R., Neira V. Avian orthoavulavirus 1 (Newcastle Disease virus) antibodies in five penguin species, Antarctic peninsula and Southern Patagonia. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2021, vol. 68, no. 6, pp. 3096–3102. <https://doi.org/10.1111/tbed.14037>
3. Samad A., Hamza M., Muazzam A., Ahmer A., Tariq S., Shahid M.J., Akram W., Kaleem M.Z., Javaid A. Newcastle disease in poultry, its diagnosis, prevention and control strategies. *International Journal of Medical, Pharmaceutical and Drug Research*, 2022, vol. 6, iss. 2, pp. 25–28. <https://doi.org/10.22161/IJMPD.6.2.3>
4. Murashkina T., Sharshov K., Gadzhiev A., Petherbridge G., Derko A., Sobolev I., Dubovitskiy N., Loginova A., Kurskaya O., Kasianov N., Kabilov M., Mine J., Uchida Y., Tsunekuni R., Saito T., Alekseev A., Shestopalov A. Avian Influenza Virus and Avian Paramyxoviruses in Wild Waterfowl of the Western Coast of the Caspian Sea (2017–2020). *Viruses*, 2024, vol. 16, no. 4, pp. 598. doi: 10.3390/v16040598
5. Afonso C.L. Virulence during Newcastle Disease Viruses Cross Species Adaptation. *Viruses*, 2021, vol. 13, no. 1, pp. 110. doi: 10.3390/v13010110
6. Kanwal A., Rashid M., Shakir U., Rizwan M., Akram M.S. Role of wild birds in spreading potential zoonotic diseases in poultry. *Zoonosis*, 2023, vol. 1, pp. 530–540.
7. Derko A., Dubovitskiy N., Prokudin A., Mine J., Tsunekuni R., Uchida Y., Saito T., Kasianov N., Loginova A., Sobolev I., Kumar S., Shestopalov A., Sharshov K. Detection of a Novel Gull-like Clade of Newcastle Disease Virus and H3N8 Avian Influenza Virus in the Arctic Region of Russia (Taimyr Peninsula). *Viruses*, 2025, vol. 17, no. 7, pp. 955. doi: 10.3390/v17070955
8. Glushchenko A.V., Yurchenko K.S., Yurlov A.K., Yushkov Y.G., Shchelkanov M.Y., Shestopalov A.M. The role of wild birds in preservation and prevalence of avian paramyxovirus serotype 1 (Newcastle disease viruses) in Siberia and the Far East, Russia. *South of Russia: ecology, development*, 2016, vol. 11, no. 2, pp. 50–58. (In Russian) <https://doi.org/10.18470/1992-1098-2016-2-50-58>
9. Zhou J., Duan Y., Liu M., Liu J., Hu Z., Duan Z. Recent advancements in the diverse roles of polymerase-associated proteins in the replication and pathogenesis of Newcastle disease virus. *Veterinary Research*, 2025, vol. 56, no. 1, p. 8.
10. Guseva N.A., Kolosov S.N., Zinyakov N.G., Andriyasov A.V., Yin R., Scherbakova L.O., Ovchinnikova E.V., Nikonova Z.B., Andreychuk D.B., Sprygin A.V., Chvala I.A., Moroz N.V. Analysis of avian orthoavulavirus 1 detected in the Russian Federation between 2017 and 2021. *Vaccines*, 2023, vol. 11, no. 6, p. 1032.
11. Perlas A., Bertran K., Abad F.X., Borrego C.M., Nofrías M., Valle R., Pailler-García L., Ramis A., Cortey M., Acuña V., Majó N. Persistence of low pathogenic avian influenza virus in artificial streams mimicking natural conditions of waterfowl habitats in the Mediterranean climate. *Science of the Total Environment*, 2023, vol. 863, article id: 160902.
12. Karamendin K., Kydyrmanov A. Cormorants as a potentially important reservoir and carrier of Newcastle disease virus on the Asian continent. *Frontiers in Veterinary Science*, 2021, vol. 8, article id: 648091.
13. Amoia C.F., Hakizimana J.N., Chengula A.A., Munir M., Misinzo G., Weger-Lucarelli J. Genomic diversity and geographic distribution of Newcastle disease virus genotypes in Africa: implications for diagnosis, vaccination, and regional collaboration. *Viruses*, 2024, vol. 16, no. 5, p. 795.
14. Nooruzzaman, M. et al. Genetic and biological characterization of Newcastle disease viruses circulating in Bangladesh during 2010–2017: further genetic diversification of class II genotype XIII in Southcentral Asia. *Journal of General Virology*, 2021, vol. 102, no. 3, article id: 001554.
15. Zhang D., Ding Z., Xu X. Pathologic mechanisms of the Newcastle disease virus. *Viruses*, 2023, vol. 15, no. 4, p. 864.
16. Maciel C. World Organisation for Animal Health. In: *Elgar Concise Encyclopedia of Animal Law*, 2025, p. 446.
17. Karkavin Y.I., Adamenko L.S., Yurchenko K.S., Glushchenko A.V. Antitumor effect of the Newcastle disease virus strain NDV/Altai/pigeon/777/2010 on a model of solid

- Lewis carcinoma. *South of Russia: ecology, development*, 2024, vol. 19, no. 3, pp. 44–54. (In Russian) doi: 10.18470/1992-1098-2024-3-4
18. Yurchenko K.S., Adamenko L.S., Glushchenko A.V., Shestopalov A.M. Oncolytic virotherapy with mesogenic Newcastle disease virus for Lewis lung carcinoma. *Cell and Tissue Biology*, 2025, vol. 19, no. 4, pp. 347–357.
19. Huang F., Dai C., Zhang Y., Zhao Y., Wang Y., Ru G. Development of molecular mechanisms and their application on oncolytic Newcastle disease virus in cancer therapy. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2022, vol. 9, article id: 889403.
20. Lu X., Zhan T., Zhou Q., Yang W., Liu K., Chen Y., Gao R., Hu J., Gu M., Hu S., Jiao X.A., Wang X., Liu X., Liu X. The haemagglutinin-neuraminidase protein of velogenic Newcastle disease virus enhances viral infection through NF- κ B-mediated programmed cell death. *Veterinary Research*, 2024, vol. 55, no. 1, p. 58.
21. Bian J., Wang K., Kong X., Liu H., Chen F., Hu M., Zhang X., Jiao X., Ge B., Wu Y., Meng S. Caspase- and p38-MAPK-dependent induction of apoptosis in A549 lung cancer cells by Newcastle disease virus. *Archives of virology*, 2011, vol. 156, no. 8, pp. 1335–1344.
22. Chandrasekaran A.P., Poondla N., Ko N.R., Oh S.J., Ramakrishna S. YM155 sensitizes HeLa cells to TRAIL-mediated apoptosis via cFLIP and survivin downregulation. *Oncology Letters*, 2020, vol. 20, no. 4, p. 72.
23. Miller P.J., Haddas R., Simanov L., Lublin A., Rehmani S.F., Wajid A., Bibi T., Khan T.A., Yaqub T., Setiyaningsih S., Afonso C.L. Identification of new sub-genotypes of virulent Newcastle disease virus with potential panzootic features. *Infection, Genetics and Evolution*, 2015, vol. 29, pp. 216–229.

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Александра В. Глущенко и Ксения С. Юрченко участвовали в разработке концепции исследования и научного дизайна, редактировании текста статьи. Вероника С. Коваленко принимала участие в написании текста статьи, анализе и интерпретации полученных результатов, а также в подготовке графического материала и статистической обработке данных. Любовь С. Адаменко и Юрий И. Каркавин осуществляли сбор и обработку экспериментальных данных и статистической обработке данных. Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи перед подачей в журнал. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке рукописи, и несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других неэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Alexandra V. Glushchenko and Kseniya S. Yurchenko participated in the development of the research concept and scientific design, and editing the text of the article. Veronika S. Kovalenko contributed to writing the text, analysing and interpreting the results and also preparing graphic material and statistics. Lyubov S. Adamenko and Yuri I. Karkavin collected and processed experimental data and also assisted with statistical analysis. All authors read and approved the final version before submission to the journal. All authors are equally participated to the preparation of the manuscript and are responsible for plagiarism, self-plagiarism and other ethical transgressions.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Вероника С. Коваленко / Veronika S. Kovalenko <https://orcid.org/0009-0005-8655-9220>
Любовь С. Адаменко / Lyubov S. Adamenko <https://orcid.org/0000-0001-6412-3622>
Ксения С. Юрченко / Kseniya S. Yurchenko <https://orcid.org/0000-0002-0679-8493>
Юрий И. Каркавин / Yuri I. Karkavin <https://orcid.org/0000-0001-8320-6298>
Александра В. Глущенко / Alexandra V. Glushchenko <https://orcid.org/0000-0002-5784-0073>