

Rzekomy pomór drobiu – przegląd strategii szczepień i zapobiegania chorobie

Wojciech Hodorowicz

z Phibro Animal Health

Rzekomy pomór drobiu (*pseudopestis avium*), czyli Choroba Newcastle (Newcastle disease, ND), jest jedną z najważniejszych jednostek chorobowych drobiu oraz innych gatunków ptaków, stanowiąc zagrożenie dla produkcji drobiu na całym świecie.

Chorobę wywołują patogenne szczepy serotypu 1 paramyksowirusa ptasiego (avian paramyxovirus type 1; APMV-1), należącego do rodziny *Paramyxoviridae*. Ten posiadający otoczkę wirus cechuje się tropizmem do nabłonka dróg oddechowych oraz zmienną chorobotwórczością: od postaci łagodnej po przebiegającą z bardzo wysoką śmiertelnością (1). Choroba szerzy się głównie poprzez bezpośredni kontakt z zakażonymi ptakami, drogą kropelkową i przez zanieczyszczoną ściółkę. Innymi źródłami zakażenia są zanieczyszczony sprzęt, padłe ptaki, woda, pasza i pracownicy fermy. Ludzie i pojazdy mogą z łatwością przenosić wirus pomiędzy kurnikami oraz fermami. Wirus choroby Newcastle nie jest chorobotwórczy dla ludzi, aczkolwiek kontakt z wirusem zjadliwym terenowym lub nawet serotypem szczepionkowym może wywoływać podrażnienie górnych dróg oddechowych oraz być przyczyną łagodnego zapalenia spojówek (2).

Wśród objawów klinicznych u zakażonych ptaków dominują objawy ze strony układu pokarmowego i nerwowego (np. kręczy szyi), jednak dość często obserwuje się także zmiany patologiczne w obrębie układu

Newcastle disease (ND) – vaccination protocols and strategies of prevention

Hodorowicz M., Phibro Animal Health

Newcastle disease (ND), caused by avian paramyxovirus type 1 (APMV-1), is among the most important diseases in poultry and other bird species. Affected birds can present clinical signs, which range from a mild, almost unnoticed respiratory distress to severe or even highly fatal disease forms. There is no treatment for Newcastle disease – its occurrence in commercial poultry is reportable to the World Organisation of Animal Health (OIE), and it impacts international trade in poultry business. Prevention relies on biosecurity procedures and vaccinations. Many countries introduced eradication policies with compulsory slaughter of infected flocks. Due to all these facts, Newcastle disease remains the serious threat to commercial poultry production throughout the world. Currently, there are classification systems of Newcastle disease viruses (NDV), which are mainly related to the clinical signs of the disease. The progress in the development of new vaccines against ND in recent years, may present some difficulties in selecting the best vaccination program. The main aim of this article is to present the current classification and to review the different approaches to ND vaccination methods, with description of all, available worldwide, vaccine types. This knowledge can help the poultry vet to make the best choice for vaccination schedule, accordingly to the local conditions and administrative requirements.

Keywords: Newcastle disease, NDV classification, control, vaccines.

oddechowego. W przebiegu łagodnej postaci choroby objawy ze strony układu oddechowego często bywają prawie niedostrzegalne, lecz w formie ostrej potrafią być silnie wyrażone poprzez osowiałość, znaczne zaburzenia oddechowe, spadek nieśności, długo utrzymujące się objawy neurologiczne czy uporczywą biegunkę. Ostra postać choroby zawsze odznacza się zwiększeniem upadków, a w ciężkich postaciach śmiertelność jest bardzo wysoka, obejmując nawet 70% zakażonego stada (3). Nasilenie objawów jest uwarunkowane wieloma czynnami, wśród których za najważniejsze uznaje się właściwości szczepu wirusa, gatunek zakażonych ptaków oraz ogólny status zdrowotny stada.

Izolaty wirusa choroby Newcastle (Newcastle disease virus; NDV) są dzielone na pięć patotypów powiązanych z nasileniem objawów klinicznych pojawiających się u zakażonych kurcząt (3):

- szczepy welogeniczne wiscerotropowe – wirusy o wysokiej zjadliwości, które powodują zakażenia skutkujące wysokimi upadkami przebiegającymi z ostrymi, krwotocznymi zmianami patologicznymi w układzie pokarmowym;
- szczepy welogeniczne neurotropowe – wirusy wysoce zjadliwe wywołujące objawy oddechowe i neurologiczne, skutkujące wysoką śmiertelnością w obrębie stada;
- szczepy mezogeniczne – wirusy o umiarkowanej zjadliwości i powodujące często ostre objawy oddechowe, ale zwykle niską śmiertelność (do 25%), umiarkowany spadek nieśności i niezbyt silnie wyrażone objawy neurologiczne u niektórych ptaków;
- szczepy lentogeniczne – wirusy o niskiej zjadliwości, zakażenie którymi skutkuje brakiem objawów klinicznych lub łagodną postacią zakażenia układu oddechowego; obserwuje się łagodne objawy ze strony układu oddechowego, niską śmiertelność i na ogół brak lub niewielki spadek nieśności;
- niepatogenne szczepy enterotropowe – są to niezjadliwe wirusy, które przypuszczalnie namnażają się głównie w układzie pokarmowym, a zakażenie nimi nie powoduje choroby w postaci klinicznej.

Granice między poszczególnymi grupami nie są jednoznaczne i objawy powiązane z określonymi grupami wirusa pokrywają się tylko w pewnym zakresie. Próba rozdzielenia pomiędzy tymi grupami poskutkowała wprowadzeniem parametru ICPI (intracerebral pathogenicity index – indeks zakaźności domózgowej), którego wysokość wyrażona jest w zakresie od 0 (brak objawów) do 2 (śmierć ptaka; 4,5). I tak, za patotypy lentogeniczne i asymptomatyczne enterotropowe uznano szczepy wirusów o ICPI poniżej 0,6, zaś za szczepy mezogeniczne o indeksie ICPI pomiędzy 0,7 a 1,6. Wszystkie szczepy wirusa NDV z indeksem ICPI powyżej 1,6 uznano początkowo za welogeniczne (3). Jednak według aktualnej rekomendacji Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE) oraz przepisów wewnętrznych Unii Europejskiej wszystkie szczepy NDV o ICPI powyżej 0,7 uznaje się za szczepy welogeniczne (3,6).

Stosowane w ostatnich latach techniki biologii molekularnej umożliwiają coraz głębsze poznawanie chorobotwórczości i antygenowości NDV. Udoskonalone

techniki sekwencjonowania nukleotydów i dostępność danych posekwencyjnych dotyczących coraz większej liczby wirusów NDV dostarczają coraz bardziej miarodajnych wyników analizy filogenetycznej. Na ich podstawie potwierdzono, że różne genotypy APMV-1 krążą w różnych częściach świata i chociaż wszystkie NDV należą do grupy APMV-1, to pomiędzy nimi istnieje relatywnie duża różnorodność antygenowa (7). Aktualnie na świecie współistnieją dwa różne systemy klasyfikacji NDV, ale nie ma zgody co do tego, który z nich jest odpowiedni (4,8). Pierwszy system dzieli wirusy NDV na sześć głównych grup genetycznych i dodatkowo trzy podgrupy (4). Drugi system klasyfikuje NDV na dwa główne działy reprezentowane przez klasę I i II, przy czym klasa I jest podzielona na dziewięć genotypów, a klasa II na dziesięć (9). Oba systemy klasyfikacji opierają się na podobnych danych genomowych, dlatego rozbieżności między nimi są umowne (10).

Objawy kliniczne i zmiany patologiczne

Rzekomy pomór drobiu jest chorobą bardzo zaraźliwą dla wielu gatunków ptaków domowych, egzotycznych oraz dziko żyjących. Dzikie ptaki, zwłaszcza sezonowo migrujące, są ważnym wektorem w transmisji wirusów terenowych.

Choroba, w zależności od tropizmu wirusa, charakteryzuje się zróżnicowanym stopniem zachorowalności, śmiertelności oraz objawami klinicznymi i zmianami patologicznymi, które mogą mieć charakter wiscero- lub neurotropowy (3, 11).

Zakażenie szerzy się głównie drogą pokarmową i kropelkową, do infekcji drogą aerogenną lub przez kontakt bezpośredni dochodzi rzadziej. Uznaje się, że brak jest możliwości transmisji pionowej, ponieważ wirus znajdujący się w inkubowanych jajach powoduje śmierć zarodka, po czym sam ginie.

W obrazie klinicznym neurotropowej postaci choroby dominuje niezborność ruchowa, opistotonus, kręcz szyi, niedowład i porażenie kończyn (**ryc. 1**). Towarzyszą temu często objawy oddechowe i wysoka śmiertelność, sięgająca nawet 70–100% (**ryc. 2**). W przebiegu zakażenia występują objawy ze strony przewodu pokarmowego. Najczęściej stwierdza się wylewy krwawe i powiększenie migdałków jelita ślepego (**ryc. 3**) oraz punktikowate wybroczyny w odbytnicy (**ryc. 4**). Odchody chorych ptaków zawierające wirus zanieczyszczają paszę, wodę i otoczenie, stanowiąc źródło zakażenia.

W przebiegu wiscerotropowej postaci choroby występują zmiany krwotoczno-dyfteroidalne w przewodzie pokarmowym, od dzioba do steku. Obserwuje się charakterystyczne wybroczyny w błonie śluzowej żołądka mięśniowego (**ryc. 5**). Błona śluzowa jest obrzęknięta, pokryta gęstym śluzem i z pojedynczymi albo mnogimi wybroczynami, które są niekiedy zlokalizowane w skupiskach na obrzeżach żołądka mięśniowego lub przełyku. Białe skorupy jaj (**ryc. 6**) albo każda zmiana barwy na znacznie jaśniejszą (**ryc. 7**), będąca odchyleniem od prawidłowego koloru, może być jednym z pierwszych objawów zakażenia lento- lub mezogenicznym wirusem choroby Newcastle (12). Obraz



Ryc. 1. Objawy nerwowe w przebiegu zakażenia welogenicznym szczepem NDV



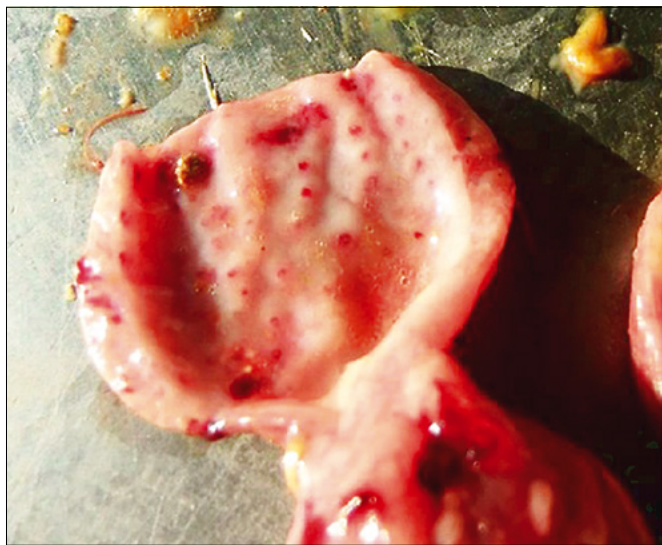
Ryc. 2. Masowe upadki w przebiegu niektórych form ND



Ryc. 3. Obrzęk i wybroczyny w migdałkach jelit ślepych



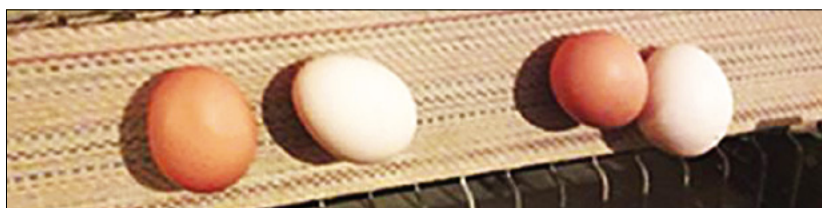
Ryc. 4. Punkcikowate wybroczyny w końcowym odcinku odbytnicy



Ryc. 5. Wybroczyny w błonie śluzowej żołądka mięśniowego



Ryc. 6. Białe skorupy jaj w przebiegu zakażenia welogenicznym szczepem NDV



Ryc. 7. Zmiana zabarwienia jaj na jaśniejszą bywa jednym z pierwszych objawów ND



Ryc. 8. Zapalenie spojówek w zakażeniu NDV



Ryc. 9. Zapalenie tchawicy w przebiegu zakażenia lentogenicznym szczepem NDV

choroby może być bardzo zróżnicowany, od niemal niezauważalnego po umiarkowany spadek nieśności, czemu na ogół towarzyszą łagodne objawy ze strony układu oddechowego i niska śmiertelność.

Choroba Newcastle jest jednak przede wszystkim schorzeniem układu oddechowego, występującym u kurcząt w każdym wieku (ryc. 8, 9). Wirus wnika przez błonę śluzową górnych dróg oddechowych i intensywnie się replikując, niszczy ich nabłonek, a następnie zakaża narządy wewnątrz. Zatem ochrona całego organizmu, nawet w postaci swoistych przeciwciał krążących, sama w sobie nie jest wystarczającym zabezpieczeniem układu oddechowego. Aby zapobiec miejscowym uszkodzeniom, konieczna jest silna odporność miejscowa, która zapewni pełną ochronę układu oddechowego przed zakażeniem NDV (13, 11).

Szczepki wirusa ND mogą mieć różne preferencje względem narządów docelowych (tropizm). Są szczepki cechujące się wysokim powinowactwem do układu oddechowego (szczepki pneumotropowe), a inne wykazują tropizm do przewodu pokarmowego (szczepki enterotropowe). Szczepki wirusa ND mające wysoki tropizm oddechowy (LaSota, VH, Clone 30, Hitchner B1) są pierwszym wyborem w koncepcji szczepionek przeciwko ND, bowiem stymulują dobrą odporność miejscową w układzie oddechowym, tworząc pierwszą linię obrony przed zakażeniem wirusem. Szczepki jelitowe dla odróżnienia omijają układ oddechowy i namnażają się w przewodzie pokarmowym, więc tam inicjują miejscową odpowiedź immunologiczną (13).

Leczenie i zapobieganie

Nie istnieje leczenie choroby Newcastle. W większości krajów wprowadzono programy eliminacji tej choroby realizowane poprzez izolację ognisk zakażenia, obowiązkowy ubój stad zakażonych i mających z nimi kontakt stad podejrzanych oraz zakaz pozyskiwania produktów drobiarskich na terenach zapowietrzonych (3, 6). Ogniska choroby Newcastle w przemysłowych stadach drobiu należy zgłaszać do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE), a ich pojawianie wpływa na międzynarodową wymianę handlową w sektorze drobiarskim. Uzyskanie kontroli choroby Newcastle w skali globalnej byłoby możliwe tylko wtedy, gdyby

wszystkie kraje zgłaszały międzynarodowym instytucjom wszystkie wybuchy choroby pojawiające się w obrębie granic danego państwa. Jednak często w krajach rozwijających się trudności przedstawia sama diagnostyka choroby Newcastle, a obawa przed administracyjnymi sankcjami powoduje, że lokalne endemie są likwidowane bez zgłaszania choroby właściwym służbom weterynaryjnym.

Środki dezynfekujące łatwo niszczą wirus, ale w ściółce może on zachować żywotność nawet przez 2 miesiące, a w ciałach padłych ptaków – nawet przez 12 miesięcy. Zatem podstawowa prewencja opiera się na dobrych procedurach bioasekuracji oraz szerokim stosowaniu szczepień profilaktycznych, a w wielu krajach szczepienia przeciwko chorobie Newcastle stały się obowiązkowe w przemysłowej produkcji drobiu (2, 3).

Obecnie stosuje się różne strategie zapobiegania chorobie Newcastle (14). Niektóre kraje zdecydowały się przyjąć zasady eliminacji choroby polegające na obowiązkowym uboju zakażonych ptaków. Inne kraje dopuszczają wyłącznie podawanie określonych żywych szczepionek wyprodukowanych w oparciu o szczepki lentogeniczne, a niektóre szczepionki uznają za zbyt zjadliwe. Co więcej, w pewnych krajach cały czas obecne są wysoce zjadliwe szczepki wirusa, ale zjawisko nie przybiera jawnej formy choroby z powodu obowiązkowych szczepień (12, 15).

Szczepki wirusa ND wykorzystywane w komercyjnych żywych szczepionkach zalicza się do trzech grup:

- apatogenne/asymptomatyczne, np. C2, VG/GA, V4,
- lentogeniczne, np. Hitchner-B1, LaSota, VH, F,
- mezogeniczne, np. Roakin, Mukteswar i Komarov.

Wszystkie te szczepki muszą spełniać odpowiednie kryteria określone przez OIE dotyczące procesu ich produkcji i stosowania. Szczepionki te można podawać metodą indywidualną – w kropli do oka, albo poprzez aplikację masową – w formie aerozolewej lub z wodą do picia (3).

Szczepienia przeciwko chorobie Newcastle

Odporność przeciwko chorobie Newcastle bazuje przede wszystkim na krążących w ustroju swoistych przeciwciałach (odporność humoralna, ogólna) oraz

przeciwciałach wydzielniczych tworzących odporność błon śluzowych (odporność miejscowa). Wirus choroby Newcastle o niskiej zjadliwości (lentogeniczny) indukuje odpowiedź ze strony układu immunologicznego, lecz nie powoduje ciężkiego zachorowania. Kurczęta, które przeżyły zakażenie zjadliwym wirusem ND, wykształcają długotrwałą odporność zabezpieczającą przed kolejną infekcją wirusem (16).

Koncepcja szczepień przeciwko rzekomemu pomorowi drobiu opiera się na stosowaniu (17):

- szczepionek żywych – które to są stworzone na bazie pełnego, żywego wirusa, który jest atenuowany (osłabiony), ale wciąż zdolny do zakażenia komórek i wytwarzania silnej odporności bez wywołania choroby. Wykorzystuje się szczepionki wirusa o niskiej lub umiarkowanej zjadliwości, naśladujące przebieg naturalnego zakażenia i jednocześnie indukujące powstanie obu rodzajów odporności (miejscową i ogólną);
- szczepionek inaktywowanych – gdzie zdolność wirusa do zakażenia komórek została wyeliminowana poprzez proces chemiczny lub fizyczny (promieniowanie, temperatura). Te szczepionki inicjują wyłącznie produkcję krążących w krwiobiegu przeciwciał, czyli odporność humoralną (ogólną);
- szczepionek wektorowych – które można pokrótce scharakteryzować jako produkt manipulacji genetycznej na kompetentnych immunologicznie genach pochodzących z dwóch różnych mikroorganizmów: wektora i donora. W efekcie dochodzi do indukcji odpowiedzi immunologicznej przeciwko zarówno patogenowi – wektorowi, jak patogenowi – dawcy. Te szczepionki także stymulują wyłącznie odporność humoralną.

Niezależnie od tego, jaki rodzaj szczepionki jest stosowany, celem nadrzędnym jest niedopuszczenie do zakażenia albo zmniejszenie liczby wrażliwych ptaków. Ochronę przed ND uzyskuje się poprzez zastosowanie żywych i/lub wektorowych/inaktywowanych szczepów szczepionkowych. Szczepienia chronią ptaki przed zakażeniem dzięki pojawieniu się przeciwciał lokalnych, humoralnych (ogólnoustrojowych) albo obu jednocześnie.

Podanie atenuowanego żywego wirusa miejscowo na błonę śluzową inicjuje zarówno odporność miejscową, jak i ogólnoustrojową, natomiast szczepienie drogą iniekcyjną szczepionką inaktywowaną lub wektorową prowadzi na ogół do powstania odporności układowej przy nieznacznej tylko ochronie miejscowej. Uważa się, że odporność przeciwwirusowa na błonach śluzowych jest uzależniona od produkowanych miejscowo przeciwciał (immunoglobuliny klasy A – IgA) przedostających się przez nabłonek na powierzchnię błony śluzowej. Po zakażeniu IgA są produkowane głównie miejscowo i transportowane przez komórki nabłonka za pomocą komponentu wydzielniczego posiadającego aktywność neutralizującą wirusy bezpośrednio na błonie śluzowej, co ogranicza, ale nie zapobiega całkowicie namnażaniu się wirusa. Szczepionki enterotropowe C2, VG/GA indukują produkcję miejscowych IgA głównie w przewodzie pokarmowym,

zaś szczepionki pneumotropowe B1, LaSota i VH indukują produkcję IgA swoistych dla NDV w górnych drogach oddechowych. Badania szczepu VH dowodzą, że stymuluje on także produkcję znacznych ilości IgA również w przewodzie pokarmowym.

Szczepionki NDV wykorzystywane w szczepionkach żywych oraz inaktywowanych

Szczepionki pneumotropowe mezogeniczne

Od czasu wystąpienia pierwszych ognisk choroby Newcastle w Indonezji i Anglii w pierwszej połowie XX wieku przeprowadzono wiele badań dotyczących zapobiegania i zwalczania tej choroby poprzez szczepienie. Pierwsze polegały na podawaniu w iniekcji inaktywowanego materiału wirusowego, ale problemy z jego produkcją i standaryzowaniem zniechęciły do jego stosowania na dużą skalę. Następnie atenuacja zjadliwych szczepów podejmowana w Indiach (szczep Mukteswar; 12), Palestynie (szczep Komarov) i USA (szczep Roakin) pozwoliła uzyskać wirusy o niskiej zjadliwości, które można było wykorzystać jako relatywnie bezpieczny antygen do szczepień masowych. Szczepionki te zapewniały bardzo dobrą ochronę przed zakażeniami terenowymi, ale pojawił się problem wynikający z samego charakteru wirusa (18). Pomimo atenuacji jego potencjał zakaźny stwarzał ryzyko rewersji do formy zjadliwej, skutkującej pojawieniem się choroby i powodowania wysokiej śmiertelności w stadzie. Co więcej, szczepionki musiano stosować u ptaków powyżej czwartego tygodnia życia. Te czynniki sprawiły, że pojawiło się wyraźne zapotrzebowanie na bezpieczniejsze i tańsze szczepionki, które można byłoby stosować u młodych ptaków.

Szczepionki pneumotropowe lentogeniczne

W wielu krajach w pierwszej połowie XX wieku podjęto prace nad stworzeniem żywej szczepionki przeciwko chorobie Newcastle. W USA Hitchner opracował szczep wirusa B1, który dość szybko uzyskał licencję dopuszczającą go do użytku komercyjnego. W 1950 r., ze względu na wciąż rosnące zapotrzebowanie na łagodne szczepionki przeciwko ND, w jednej z farm przemysłowych wyizolowano kolejny szczep, a jego wersję szczepionkową od nazwiska hodowcy nazwano LaSota. Jednak wraz z globalnym rozwojem przemysłu drobiarskiego problemem stały się odczyny poszczepienne. Jeden ze sposobów zmierzających do uzyskania szczepów szczepionkowych, które wywołałyby mniej odczynów poszczepiennych, opierał się na selekcji subpopulacji wirusa, która namnażałaby się w jednorodną populację, co z kolei powodowałoby mniej odczynów poszczepiennych, przy jednoczesnym zachowaniu jej immunogenności. Przykładem takiego rozwiązania są klonowane szczepionki wyselekcjonowane ze szczepu LaSota. Te klonowane szczepionki, takie jak VH, zostały wprowadzone na rynek w latach 90. XX wieku i zostały dobrze przyjęte przez producentów drobiu i lekarzy weterynarii (1, 13, 19).

Tabela 1. Szczepy wirusa ND najczęściej wykorzystywane w produkcji szczepionek przeciwko pomorowi rzekomemu drobiu (19)

Szczep	ICPI	Klasyfikacja
PHY-LM V4	0,14	apatogeny enterotropowy
Ulster 2C	0,14–0,23	apatogeny enterotropowy
VG-GA	0,03	apatogeny enterotropowy
VH	0,15	lentogeniczny klonowany
Hitchner B1	0,2	lentogeniczny
Clone 30	0,35	lentogeniczny klonowany
LaSota	0,4	lentogeniczny
Muktesvar	1,4	mezogeniczny
Komarov	1,41	mezogeniczny
Roakin	1,45	mezogeniczny

Objaśnienie: ICPI – intracerebral pathogenicity index – indeks zakaźności domózgowej

Apatogenne, asymptotyczne szczepy enterotropowe

Mimo że klonowane szczepionkowe szczepy lentogeniczne dawały słabsze odczyny poszczepienne niż ich wirusy macierzyste, szczepy te nadal powodowały pewne uszkodzenia układu oddechowego i zaczęto uważać je za niepożądane w przemysłowej produkcji drobiu. Ostatnio na rynek wprowadzono szczepy szczepionkowe wirusa ND, przede wszystkim namnażające się w układzie pokarmowym, a w nieznacznym tylko stopniu w układzie oddechowym (13). Klasyfikuje się je jako asymptotyczne (bezobjawowe) lub apatogenne (niechorobotwórcze) szczepy o powinowactwie do układu pokarmowego (enterotropowe), a szczepy Ulster 2C, VG/GA i PHY.LMV.42 to najczęściej dostępne na rynku komercyjne szczepy szczepionkowe. Mają one bardzo niski indeks zjadliwości domózgowej (tab. 1), przez co nie powodują odczynów poszczepiennych (15). Można je stosować u jednodniowych piskląt w wylęgarniach.

Istnieją jednak pewne niedogodności związane ze stosowaniem tych szczepionek. Mianowicie są one mniej immunogenne niż szczepionki oparte na szczepach lentogenicznych oraz dodatkowo dochodzi do częściowej interferencji z przeciwciałami matczynymi obecnymi u piskląt. Z tego względu przy stosowaniu szczepionek opartych na tych szczepach istnieje konieczność wykonywania częstych szczepień przypominających na fermach, gdzie ryzyko zakażenia chorobą Newcastle jest bardzo wysokie. Działanie takie wymaga regularności i generuje koszty, przez co szczepionki te wykorzystuje się na terenach słabo narażonych na wystąpienie endemii choroby Newcastle.

Szczepionki inaktywowane

W szczepionkach inaktywowanych wykorzystano zarówno szczepy zjadliwe mezogeniczne, jak i lentogeniczne, ale z punktu widzenia bezpieczeństwa stosowanie tych ostatnich wydaje się właściwsze, ponieważ po pierwsze pojawia się aspekt manipulacji dużymi ilościami zjadliwych wirusów, a po drugie powstaje zagrożenie wynikające z nieodpowiedniej inaktywacji i możliwości następczego zakażenia

podczas szczepienia. Ponieważ nadrzędnym celem jest pobudzenie układu odpornościowego do produkcji swoistych przeciwciał, podczas produkcji szczepionki inaktywowanej ważne jest uzyskanie i zastosowanie w dawce dużych ilości antygenów wirusa, ponieważ nie dochodzi do jego namnażania w organizmie. Wyjątkowo wysokie miana można uzyskać przy stosowaniu szczepionek opartych na szczepie VH, jednak niektóre komercyjne szczepionki inaktywowane są wytwarzane na bazie takich szczepów macierzystych, jak Hitchner B1, LaSota lub inne (14),

Stosowanie tych szczepionek polega na podaniu ich w formie indywidualnych iniekcji, dzięki czemu każdy ptak otrzymuje jej standardową dawkę.

Szczepionki wektorowe

Szczepionki wektorowe można pokrótce zdefiniować jako produkt końcowy genetycznej manipulacji na mikroorganizmach, polegającej na izolacji pewnych genów dawcy i wstawieniu ich do materiału genetycznego innego mikroorganizmu będącego wektorem. W ten sposób inicjuje się odpowiedź immunologiczną skierowaną przeciwko obu patogenom: dawcy i wektorowi.

Obecnie na rynku dostępne są dwa rodzaje szczepionek wektorowych przeciwko chorobie Newcastle, które są stosowane w produkcji drobiarskiej. W pierwszym z nich jako wektor wykorzystuje się wirus ospy ptaków (FPV, fowl pox virus), a w drugim nośnikiem jest herpeswirus indyków (HVT, turkey herpesvirus). Są one bezpieczne, ponieważ nie narażają ptaków na kontakt z pełnym, zjadliwym wirusem choroby Newcastle, a ponadto nie wchodzi w interakcje z innymi żywymi szczepionkami przeciwko chorobom układu oddechowego, takimi jak zakaźne zapalenie oskrzeli (IB) czy metapneumowirus (APV).

Szczepionki wektorowe zapewniają dość dobrą ochronę przed chorobą Newcastle i ograniczają siewstwo wirusa, jednak z ich stosowaniem wiążą się pewne niedogodności. Mianowicie szczepionka oparta na wektorze ospy (FP) powoduje dość szybkie uzyskanie odporności, bo w ciągu około 2 tygodni, ale trwa ona krótko – nie dłużej niż 8 tygodni. Dodatkowo istnieje spore ryzyko interferencji z przeciwciałami matczynymi, więc rzadko kiedy zalecana jest do stosowania

w wylęgarniach. Szczepionki na bazie HVT działają odwrotnie – odporność pojawia się dość późno – po około 4–5 tygodniach, ale utrzymuje się znacznie dłużej, według niektórych producentów szczepionek nawet kilkadziesiąt tygodni (17, 19).

Ponadto po zastosowaniu szczepionek wektorowych nie ma zjawiska pasażowania wirusa szczepionkowego i możliwości „doszczepienia się” ptaków niezaszczepionych, dlatego ptaki pominięte podczas szczepienia pozostają wrażliwe na zakażenie wirusem ND do końca życia. W związku z tym stosowanie w wylęgarniach szczepionek wektorowych w obu programach immunizacji wymaga również podania jednodniowym kurczętom szczepionek żywych, opartych na atenuowanym wirusie choroby Newcastle.

Niemniej szczepionki wektorowe HVT pozwalają na przezwyciężenie problemu interferencji z przeciwciałami matczynymi, dość podobnie do żywych i inaktywowanych szczepionek przeciwko chorobie Newcastle stosowanych łącznie w wylęgarniach.

Odczynny poszczepiennie przy żywych szczepionkach

Żywe szczepionkowe wirusy ND o powinowactwie pneumotropowym zapewniają dobrą ochronę, ale niekiedy mogą powodować nawet poważne reakcje poszczepienne ze strony układu oddechowego, szczególnie gdy są stosowane u jednodniowych ptaków. Najczęściej powodem wystąpienia takich reakcji jest niewłaściwa aplikacja szczepionki poprzez podanie sprayu o zbyt małej kropli. Wtedy cząsteczki szczepionki wnikają zbyt głęboko do układu oddechowego i działając drażniąco, wywołują reakcję poszczepienną. Efekt ten może być nasilony przez wtórne zakażenia takimi patogenami, jak *E. coli*, *Mycoplasma* spp. czy *Ornithobacterium rhinotracheale*, co z kolei może świadczyć o słabej jakości piskląt czy niewłaściwym programie szczepień w stadzie rodzicielskim. Ważną rolę odgrywają też warunki higieniczne w wylęgarni i sama technika lęgu. W efekcie może to doprowadzić do wzrostu zachorowalności i śmiertelności po szczepieniu, a ostatecznie może niekorzystnie wpływać na parametry produkcyjne stada.

Przy stosowaniu szczepionek żywych, atenuowanych, pneumotropowych należy wspomnieć o możliwości wystąpienia zjawiska znanego jako rolling effect, które to spowodowane jest niewłaściwą techniką masowej aplikacji szczepionki. Polega ono na tym, że jeśli osoba szczepiąca poda szczepionkę nie całemu stadu, a jedynie pewnej jego części, to ptaki zaszczepione będą pasażowały szczepionkę, zakażając nim ptaki uprzednio niezaszczepione. W rezultacie w stadzie obserwuje się trwający nawet kilkanaście dni efekt poszczepienny w postaci lekkich objawów ze strony układu oddechowego. Zatem o ile nie dojdzie do wtórnych powikłań bakteryjnych, to dodatkowe upadki raczej się nie pojawiają, ale ptaki wykazują zmniejszenie poboru paszy i zahamowanie wzrostu, co przekłada się na końcowy efekt ekonomiczny stada.

Żywe szczepy enterotropowe namnażają się głównie w jelitach i mogą powodować lokalne uszkodzenia, które mogą zakłócać trawienie i wchłanianie

składników odżywczych. Taka reakcja jest często niewidoczna i nawet zaburzenia ze strony układu pokarmowego po szczepieniu nie są postrzegane jako odczynny poszczepienny. Niemniej szczepienie takie może mieć negatywny wpływ na końcowy efekt produkcyjny stada brojlerów.

Chcąc uniknąć odczynów poszczepiennych ze strony układu oddechowego po zaszczepieniu żywym, pneumotropowym wirusem ND, można rozważyć inne podejście do szczepień.

Pierwsza opcja polega na zamianie oddechowych szczepów wirusa ND na szczepy jelitowe. Odczynny poszczepienny w układzie oddechowym wówczas nie występuje, ponieważ takie szczepy namnażają się głównie w przewodzie pokarmowym i to tam powstają ewentualne miejscowe odczyny, zwykle niezauważalne klinicznie. Wadą jest słaba miejscowa ochrona dróg oddechowych, o tyle ważna, że stanowi pierwszą linię obrony przed zakażeniem NDV.

Drugą opcją jest podejście „oddechowe”. Stosowanie łagodniejszych szczepionek przeciwko ND opartych na szczepach oddechowych (np. Hitchner B1), które nadal zapewniają dobrą odporność miejscową, nie wywołując odczynów ze strony układu oddechowego. Ze względu na relatywnie krótki czas utrzymywania się przeciwciał po podaniu żywych szczepionek przeciwko ND kurczęta zaszczepione w pierwszym dniu życia powinny otrzymać szczepienie przypominające w celu zapewnienia pełnej ochrony przed chorobą. W przypadku szczepienia przypominającego zaleca się zastosowanie bardziej immunogennej szczepionki, np. wywodzącej się z macierzystego szczepu LaSota.

Odpowiedź immunologiczna wzrasta wraz ze zwiększaniem się immunogenności żywej szczepionki (19). Aby zatem uzyskać wymagany poziom ochrony bez poważnych odczynów poszczepiennych, potrzebne są programy szczepień, które obejmują sekwencyjne stosowanie coraz bardziej immunogennych wirusów lub żywych szczepionką, a następnie szczepionek inaktywowanych.

Szczepionki żywe i inaktywowane oraz żywe i wektorowe

W ciągu ostatnich 25 lat przedmiotem szerokich badań było jednoczesne stosowanie żywych i inaktywowanych szczepionek przeciwko ND u jednodniowych piskląt. Wyniki wskazują, że wyższe miana w testach HI, lepszą ochronę przed zakażeniem terenowym i dłużej utrzymującą się odporność można uzyskać przy skojarzonym stosowaniu żywych i inaktywowanych szczepionek w porównaniu do oddzielnie podawanych szczepionek żywych albo wyłącznie inaktywowanych. Korzyści płynące ze skojarzonego podania drogą aerozolową szczepionki żywej i jednocześnie drogą iniekcyjną szczepionki inaktywowanej już w wylęgarni są szczególnie widoczne przy silnej presji wirusa terenowego. Taki system zwiększa i przedłuża ochronę dzięki połączeniu miejscowej odporności (zapewnionej przez żywą szczepionkę) z odpornością humoralną (krążące przeciwciała wytworzone w odpowiedzi na inaktywowaną szczepionkę). Reasumując, szybko,

nawet po 7 dniach, uzyska się miejscową odporność, która zostanie przedłużona o odporność humoralną, która pojawia się po 2–3 tygodniach po szczepieniu i będzie się utrzymywać przez kilka następnych tygodni. Takie rozwiązanie zdecydowanie zaleca się na obszarach, gdzie obserwuje się wysoką presję terenowych szczepów NDV.

Podobne efekty można uzyskać przy zastosowaniu systemu szczepienia łączonego – szczepionki żywej atenuowanej i szczepionki wektorowej opartej na wektorze HVT. W wielu wypadkach taki program szczepień wydaje się być wystarczający, aby zabezpieczyć kurczęta brojlerowskie do 6. tygodnia życia. Jednak późne powstawanie dobrej odporności może być wskazaniem do wykonania dodatkowego szczepienia szczepionką żywą w wieku około 3. tygodnia życia. Działania takie sugeruje się w dużych fermach wielowiekowych oraz na obszarach narażonych na wystąpienie ND.

Mimo że obie kombinacje wzmacniają ochronę przed NDV, należy pamiętać, że interferencja z przeciwciałami matczynymi może nieznacznie zmniejszyć jej skuteczność (15).

Alternatywne podejście do szczepień przeciwko pomorowi rzekomemu drobiu

Istnieje wiele skutecznych schematów stosowania szczepionek inaktywowanych i/lub żywych, ale ostateczna decyzja co do wyboru programu szczepienia przeciwko ND należy do lekarza weterynarii. Powinna ona być oparta na dogłębnej analizie i wiedzy o takich parametrach, jak poziom odporności matczynej, aktualny stan immunologiczny stada i całej fermy oraz status epidemiologiczny wirusa ND w regionie. Najważniejsze cechy aktualnie stosowanych na świecie szczepionek przeciwko chorobie Newcastle przedstawiono w tabeli 2.

Obecnie, dzięki wprowadzeniu i dość powszechnemu stosowaniu zaawansowanych technologicznie szczepionek wektorowych, podawanie drogą iniekcji inaktywowanych, monowalentnych szczepionek przeciwko ND jest nadal dobrym i skutecznym, choć czasem trochę zapomnianym rozwiązaniem. To sprawdzone i stosunkowo tanie rozwiązanie wprowadzone wiele lat temu i nadal stosowane w wielu krajach. Metoda ta nie wymaga żadnego wyszukanego sprzętu, innego niż obecnie stosowany do szczepień kurcząt w wylęgarniach na całym świecie, czyli półautomatów iniekcyjnych lub zwykłych ręcznych strzykawek typu Socorex.

Niektóre monowalentne szczepionki inaktywowane opracowane w opaciu o lentogeniczne pneumotropowe szczepy wirusa ND (np. szczep VH) na bazie adjuwantu wodno-olejowego mogą być przeznaczone do podawania również pisklątom jednodniowym (20).

U brojlerów szczepionkę taką można stosować w każdym wieku, można więc ją podawać podskórnie nawet jednodniowym pisklątom, w dawce 0,1–0,2 ml. W tym przypadku odporność humoralna pojawia się pod koniec 2. tygodnia życia, a pełną odporność uzyskuje się w 4. tygodniu życia. Jest to wynik lepszy lub co najmniej porównywalny z efektem uzyskiwanym

po zastosowaniu bardziej zaawansowanych i znacznie droższych szczepionek wektorowych. Oczywiście na takie rozwiązania można sobie pozwolić przy stosunkowo niskiej prevalencji wirusa ND w środowisku i przy wystarczająco wysokim poziomie odporności matczynej. Jeśli presja wirusów terenowych rośnie lub miana przeciwciał matczynej w badaniach laboratoryjnych nie osiągną zadowalającego poziomu (3–7 grupa mian w badaniu HI lub w klasycznym teście ELISA), zaleca się zastosowanie szczepionki inaktywowanej iniekcyjnie jednocześnie z żywą szczepionką, którą podaje się w oprysku pod postacią grubej kropli (kropla o średnicy 150–250 μm). W ten sposób, po podaniu żywej szczepionki osiąga się pełną odporność przeciwko NDV poprzez dwa różne mechanizmy: po zaledwie kilku dniach od szczepienia osiąga się zadowalający poziom odporności miejscowej, która skutecznie chroni przed chorobą Newcastle przez 2–3 tygodnie, a w międzyczasie inaktywowana szczepionka pobudzi układ odpornościowy do wytwarzania swoistych przeciwciał. Wreszcie, w wieku 4. tygodni można uzyskać pełną odporność. Taki system ochrony kurcząt zapewnia skuteczną ochronę nawet w obliczu znacznego zagrożenia zakażeniem welogenicznymi szczepami wirusa choroby Newcastle.

Podobny poziom ochrony w stadach brojlerów można uzyskać przy stosowaniu szczepionek wektorowych w następującym schemacie: 1 dzień – szczepionka wektorowa; faza odchowu – podanie szczepionki inaktywowanej w iniekcji poprzedzone 2- lub 3-krotnym opryskiem grubokroplowym z użyciem żywej szczepionki.

Jednak ze względu na cenę szczepionki wektorowej istotnie zwiększają koszt całego programu szczepień, dając wyniki absolutnie porównywalne do programów opierających się na stosowaniu tradycyjnych szczepionek żywych naprzemiennie ze szczepionkami inaktywowanymi lub schematem użycia szczepionki inaktywowanej zamiast szczepionki wektorowej u piskląt jednodniowych.

Co więcej, należy pamiętać o żmudnym transporcie i przechowywaniu szczepionek wektorowych, które muszą przebywać w temperaturze co najmniej –130°C, w praktyce oznacza to warunki ciekłego azotu.

Jeśli chcielibyśmy wybrać dwa najskuteczniejsze schematy dla ptaków długo żyjących, czyli niosek jaj konsumpcyjnych i kur w stadach rodzicielskich, byłyby one podobne do schematów szczepienia brojlerów:

- pojedyncza iniekcja szczepionki inaktywowanej w pierwszym dniu życia w przypadku dobrego statusu odporności piskląt w stadzie i niskiego ryzyka zakażenia wirusem terenowym;
- podanie w iniekcji pełnej dawki szczepionki inaktywowanej wraz ze szczepieniem szczepionką żywą w formie sprayu grubokroplowego, jeśli istnieje zwiększone ryzyko terenowego zakażenia ND i wybuchu choroby (21).

W obu przypadkach, ze względu na ograniczone utrzymywanie się przeciwciał, zdecydowanie zaleca się ponowne doszczepienie ptaków w okresie odchowu. Najwyższy poziom odporności można uzyskać poprzez 2- lub 3-krotne podanie żywych szczepionek (np. opartych o szczepy VH czy LaSota) w oprysku

grubokropowym, a następnie poprzez podanie podskórne lub domięśniowe jednej pełnej dawki szczepionki inaktywowanej pod koniec okresu odchowu. W tym systemie należy pamiętać o zasadzie, iż szczepionki żywe zabezpieczają przed chorobą na bieżąco w okresie odchowu, jednakże ostatnie podanie powinno być potraktowane jako tzw. primowakcynacja, czyli przygotowanie ptaków do podania szczepionki inaktywowanej (tzw. booster). Najlepsze efekty w postaci wyrównanej i długotrwałej odporności można uzyskać, gdy primowakcynacja zostanie wykonana 2–4 tygodnie przed iniekcją szczepionki inaktywowanej (22).

Takie działania ma na celu zarówno ochronę zaszczonego stada przed wybuchem choroby, a w stadach rodzicielskich osiągnięcie immunologicznej jednorodności stada. Wysokie miano przeciwciał w stadach rodzicielskich brojlerów wpływa na przeniesienie wysokich mian przeciwciał matczynych na potomstwo. Szacuje się, że stopień transmisji mian przeciwciał z kury rodzicielskiej na potomstwo w przypadku rzekomego pomoru drobiu wynosi około 30%. Oznacza to, że jeśli przykładowo w stadzie średnia mian przeciwko NDV w teście ELISA wynosi 15 000, to można się spodziewać, że potomstwo będzie miało średnie miano na poziomie ok. 5000.

W badaniach terenowych przeprowadzonych przez firmę Phibro w stadach niosek towarowych w Tajlandii i Izraelu po dwóch tylko szczepieniach z użyciem swojej szczepionki (w wieku 8 i 17 tygodni) średnie miano geometryczne w teście ELISA wyniosło 8300–8560, co według powszechnie przyjętego schematu było poziomem bardzo dobrze zabezpieczającym przed chorobą i siewstwem wirusa ND.

Podobne badania wykonane w stadach niosek reprodukcyjnych po programach uwzględniających szczepionki żywe i inaktywowane pozwalały osiągnąć miana powyżej 20 000 w klasycznym teście ELISA. Za poziom przeciwciał zabezpieczający przed chorobą i siewstwem wirusa uznaje się wartość, gdy w teście ELISA miana MDA u piskląt jednodniowych wyniosą około 4000–6000 (4–8 grupa mian w teście HI).

Zatem znając założenia pozwalające na transfer poziomu przeciwciał matczynych na potomstwo na poziomie 30%, można to uznać za wynik zdecydowanie zadowalający.

Prawidłowo przeprowadzone szczepienie inaktywowaną szczepionką pod koniec okresu odchowu, poprzedzone co najmniej dwoma szczepieniami żywymi szczepionkami (np. 6–8 i 10–12 tydzień życia) lub po dodatkowym jednorazowym podaniu szczepionki inaktywowanej w iniekcji (5–10 tydzień życia), pozwala na wytworzenie długotrwałej odporności, utrzymującej się przez co najmniej 60 tygodni. W tym przypadku nie ma potrzeby wykonywania szczepienia przypominającego w fazie produkcyjnej, z wyjątkiem przypadków, gdy hodowca przeprowadza przepierzanie ptaków. Wówczas po zakończeniu przepierzania zaleca się zastosowanie pojedynczej iniekcji szczepionki inaktywowanej, najczęściej jest to szczepionka skojarzona z innymi antygenami (np. IB i EDS) w pełnej zalecanej przez producenta dawce.

Szczepionki inaktywowane na bazie adjuwan- tu wodno-olejowego można również z powodzeniem

stosować u indyków, co potwierdzono w wielu badaniach terenowych, popartych powszechnym ich użyciem w zasadzie na całym świecie (14, 17, 22).

Podsumowanie

Od początków przemysłu drobiarskiego zapobieganie chorobom zakaźnym i upadkom ptaków ma kluczowe znaczenie dla producentów. Na obszarach endemicznego występowania choroby Newcastle zapobieganie jej odgrywa decydującą rolę w programach szczepień. Aby sprostać temu wyzwaniu, dostępnych jest kilka różnych rodzajów żywych szczepionek. Ta ewolucja – od szczepów mezogenicznych powodujących silne odczyny po wyjątkowo bezpieczne szczepionki inaktywowane czy wektorowe przeciwko ND – wyraźnie pokazuje, że naukowcy zawsze zwracali uwagę na wymagania producentów drobiu. Niemniej jednak, pomimo dostępności bardzo skutecznych szczepionek, same szczepienia nie są wystarczające do kontrolowania choroby Newcastle. Rygorystyczne zasady bioasekuracji i odpowiednie procedury sanitarne są niezbędne w skutecznym programie zapobiegania tej chorobie. Wreszcie należy również wspomnieć, że na wyniki szczepień mogą znacząco wpływać inne czynniki, jak mykotoksyny, czynniki środowiskowe czy współistniejące immunosupresyjne zakażenia wirusowe, takie jak choroba Gumboro, choroba Mareka lub wirus niedokrwistości zakaźnej kurcząt. Wszystkie te czynniki należy uwzględnić także po to, by uzyskać jak najlepszą ochronę przed chorobą Newcastle.

Programy szczepień przeciwko ND obejmujące stosowanie żywych i inaktywowanych szczepionek zwykle powodują wytworzenie wyższego miana przeciwciał, które powinno utrzymywać się przez całe życie ptaka. Do zakażenia ptaków będzie wówczas konieczna większa presja wirusa w środowisku albo bardziej zjadliwy wirus terenowy. Dowiedziono, że przeprowadzanie indywidualnie dwóch lub więcej szczepień szczepionkami żywymi zabezpiecza ptaki przed objawami klinicznymi, jak również, że żywe i inaktywowane szczepionki stosowane łącznie zapewniają doskonałą odporność układową. Uzyskanie silnej, miejscowej odporności błon śluzowych po takim programie szczepień, zwłaszcza w górnych drogach oddechowych, jest na tyle istotne, że program taki można uznać za optymalny do regularnego stosowania u ptaków długo żyjących (14, 21, 22).

Piśmiennictwo

1. Charlton B.R.: *Avian disease manual*. AAAP 6th edition 2006; s. 55–60.
2. Saif Y.M.: *Diseases of Poultry*. Iowa State Press, 11th edition 2003; s. 63–88.
3. OIE. Newcastle Disease. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* 2012. vol. 1, s. 555–574.
4. Aldous E.W., Mynn J.K., Banks J. Alexander D.J.: A molecular epidemiological study of avian paramyxovirus type 1 (Newcastle disease virus) isolates by phylogenetic analysis of a partial nucleotide sequence of the fusion protein gene. *Avian Pathol.* 2003. 32, 239–257.
5. Orsi M.A., Doretto J.L., Reischak D., da Silva L.H.A., Spilki F.R., Buzinaro M.G., Arns C.W.: Newcastle Disease Virus Vaccine Strains: Immunogenicity is not influenced by ICPI. *Brazil. J. Poult. Sci.* 2009, 11, 129–133.
6. EFSA (European Food Safety Authority). EU thinking on Newcastle vaccination. *International Hatchery Practice* 2007, 21, 15–17.
7. Barranon F.: Newcastle disease control in poultry. *International Hatchery Practice* 2008, 22, 23–25.

8. Czeglédi A, Ujvári D., Somogyi E., Wehmann E., Werner O., Lomniczi B.: Third genome size category of avian paramyxovirus serotype 1 (Newcastle disease virus) and evolutionary implications. *Virus Res.* 2006, **120**, 36–48.
9. Ballagi-Pordány A., Herczeg E., Belak S., Lomniczi B.: Identification and grouping of NDV strains by restriction site analysis of a region from the F gene. *Arch. Virol.* 1996, **141**, 243–261.
10. 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. *Gen. Evol.* 2015, **9**, 216–229.
11. Aldous E.W., Alexander D.J.: Detection and differentiation of Newcastle disease virus (avian paramyxovirus type 1). *Avian Pathol.* 2001, **30**, 117–128.
12. Rehmani S.F., Firdous S., Parveen N., Khan K.R., Shaikh H.A.: Effect of Mukteswar and Komarov strains of ND vaccines on egg production. *Pakistan J. Pharm. Sci.* 1989, **2**, 59–64.
13. Koopman R.: Newcastle disease vaccination of broilers. *International Hatchery Practice* 2007, **21**, 17–19.
14. Muhammad Bashir Bello M.B.; Khatijah Y. Aini I., Hair-Bejo M., Peeters B. P. H., Omar A.R.: Diagnostic and Vaccination Approaches for Newcastle Disease Virus in Poultry: The Current and Emerging Perspectives. *Hindawi BioMed Research International.* 2018; pp. 1–18
15. A. E. Absalón A.E., Cortés-Espinosa D.V., Lucio E., Miller P.J., Afonso C. L.: Epidemiology, control, and prevention of Newcastle disease in endemic regions: Latin America. *Trop. Anim. Health Pro.* 2019, **51**, 1033–1048,
16. Lin M.Y., Liu H.J., Ke G.M.: Genetic and antigenic analysis of Newcastle disease viruses from recent outbreaks in Taiwan. *Avian Pathol.* 2003, **32**, 345–350.
17. Dimitrov K.M., Afonso C.L., Yu Q., Miller P.J.: Newcastle disease vaccines – A solved problem or a continuous challenge? *Vet. Microbiol.* 2016, **206**, 126–136.
18. Shahin. R.G., Yousef Y.I., Mahmoud G., Ibrahim M.G., Talaat S., Sultan H.A.: Protective Efficacy of Some Newcastle Disease Virus (NDV) Vaccination Programs Against Velogenic NDV Genotype VII in Broiler Chickens. *J. Curr. Vet. Res.* 2019, **1**, 103–114.
19. Paniago M.T.: Prevention of Newcastle disease – past, present and future. *International Poultry Production* 2006, **20**, 15–19.
20. Abolnik C.: Newcastle Disease – a South African perspective. *Proceedings of XIX WVPA Congress, Capetown 2015*; www.wvpc2015.com; pp.57–64.
21. Alam S., Khan S., Ahmad N., Rafiullah, Tahir F., Sadia H., Munibullah.: Comparative Efficacy of three Newcastle Disease Vaccine Strain in Layers. *Open Access Journal Veterinaria* 2016, **2** (4), 6–12.
22. Dortmans J.C.F.M., Peeters B.P.H., Koch G.: Newcastle disease virus outbreaks: Vaccine mismatch or inadequate application? *Vet. Microbiol.* 2012, **160**, 17–22.

Lek. wet. Wojciech Hodorowicz,
e-mail: Wojciech.Hodorowicz@pahc.com