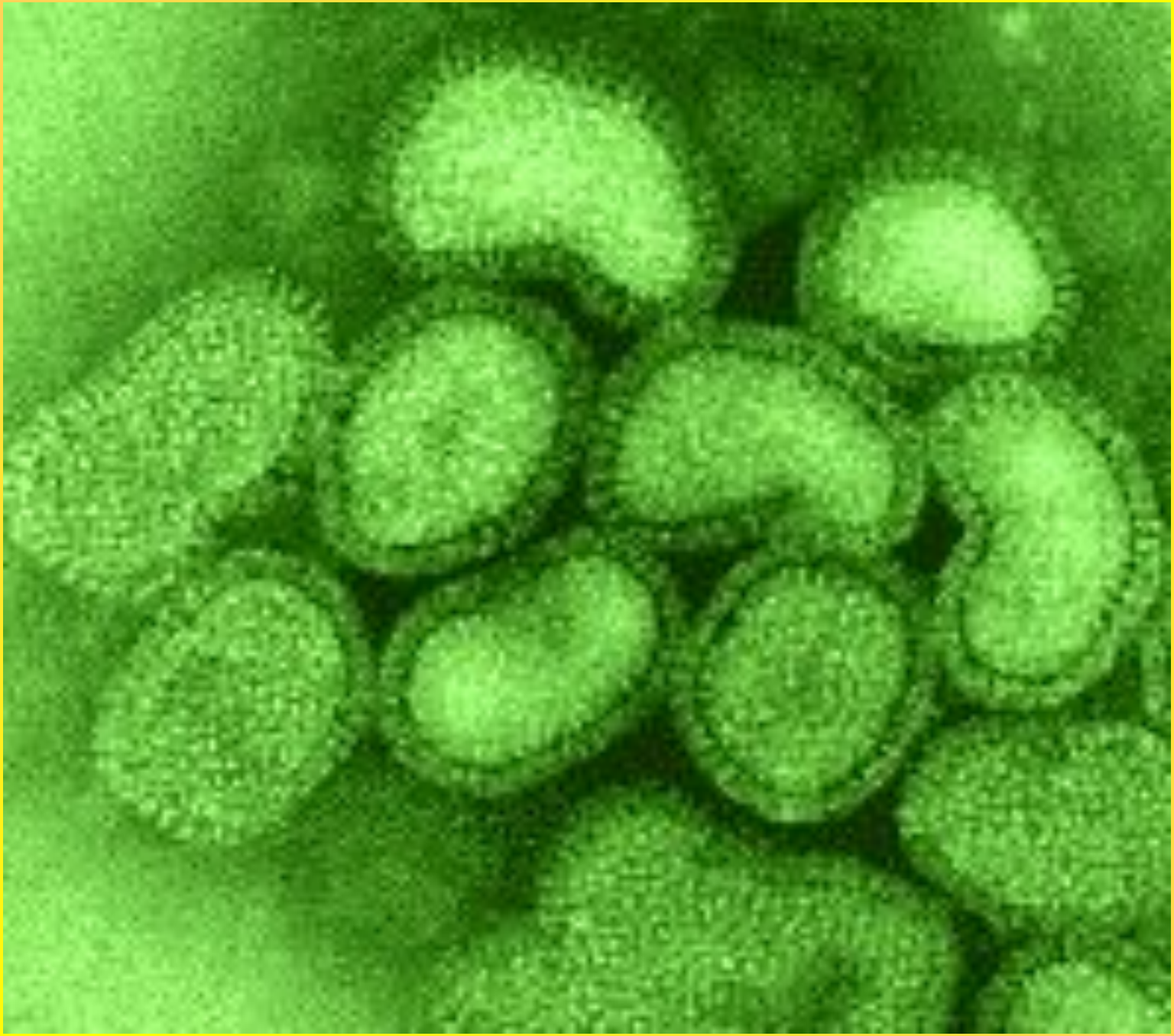
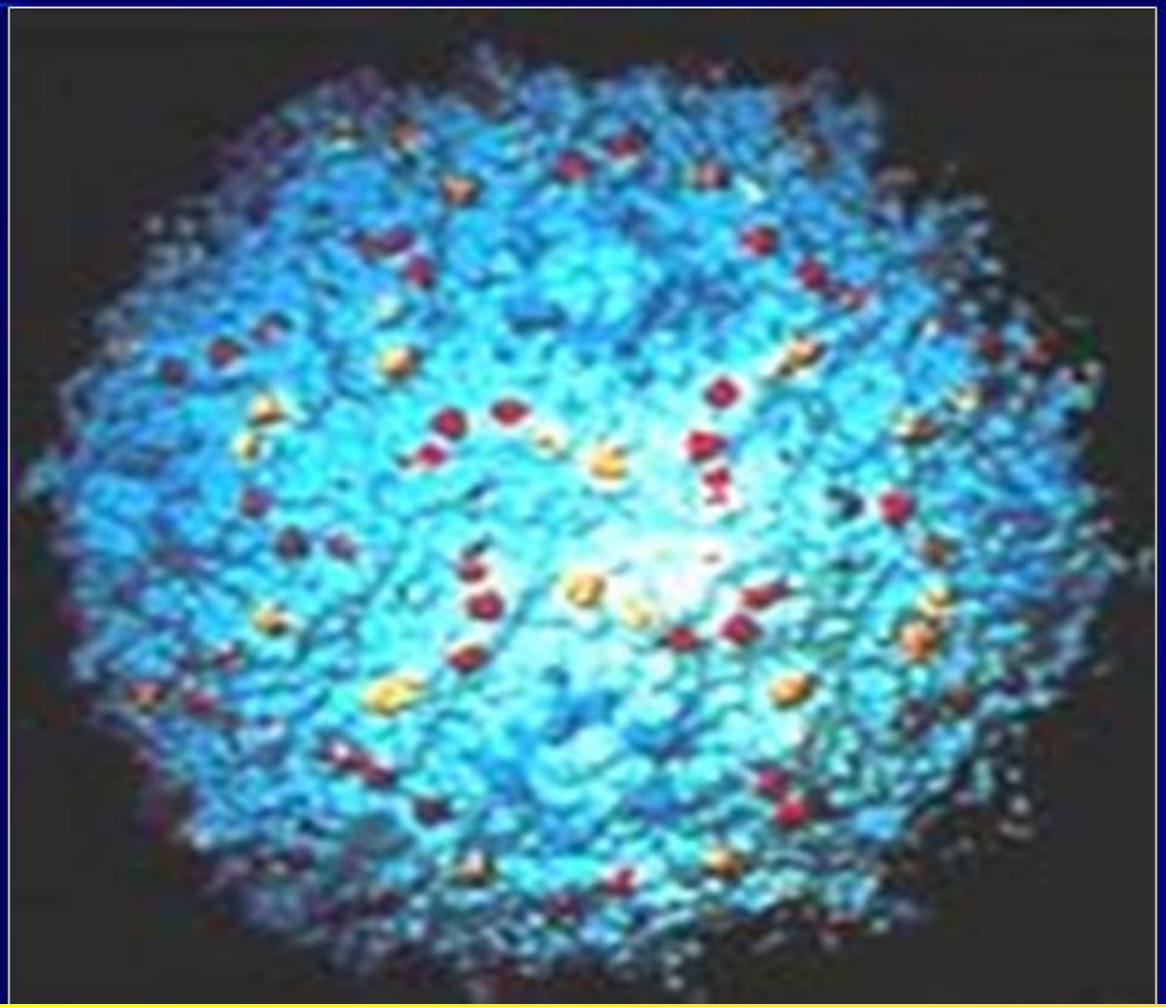
Грипп птиц: возможности вакцинопрофилактики

Джавадов Эдуард Джавадович Академик РАН

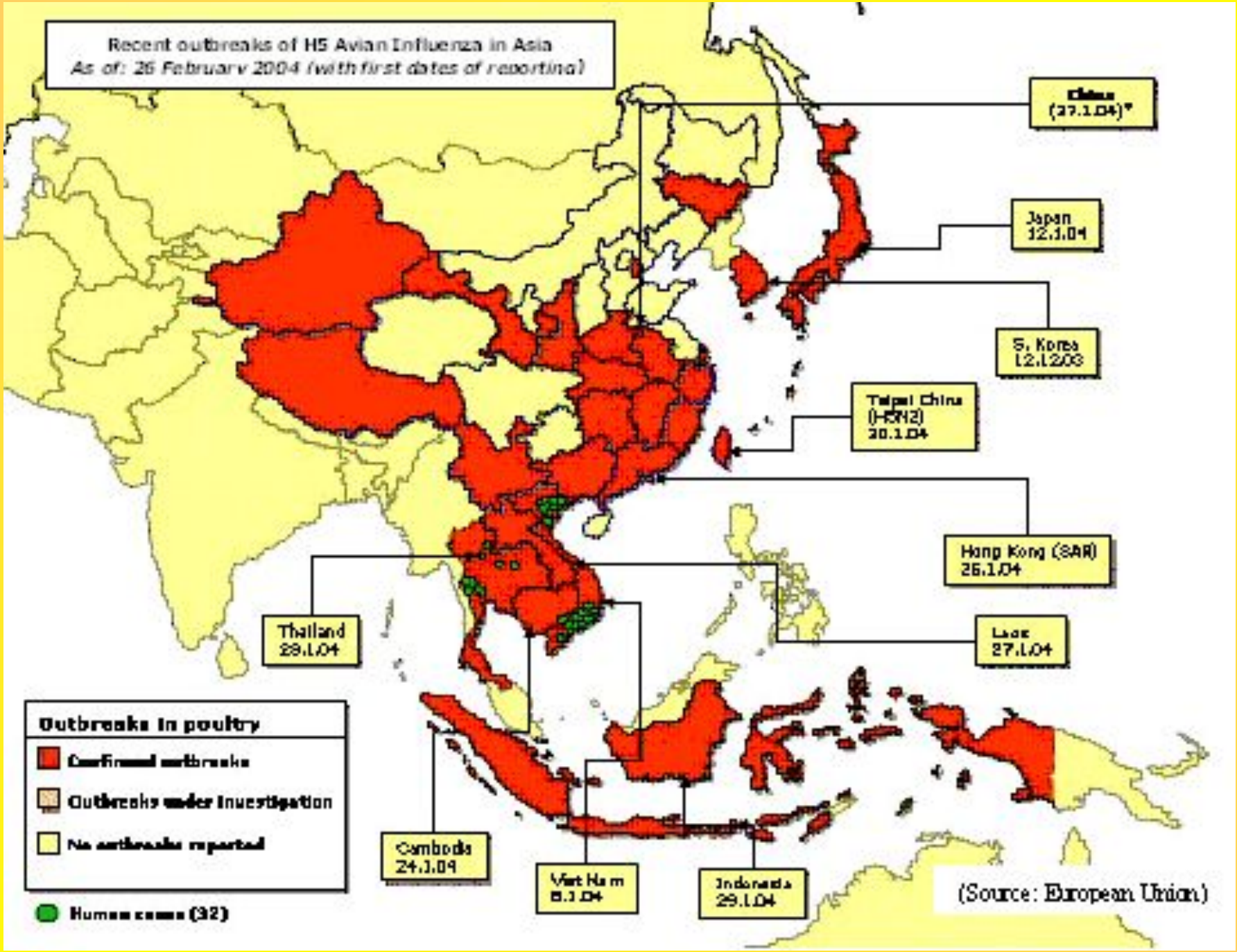


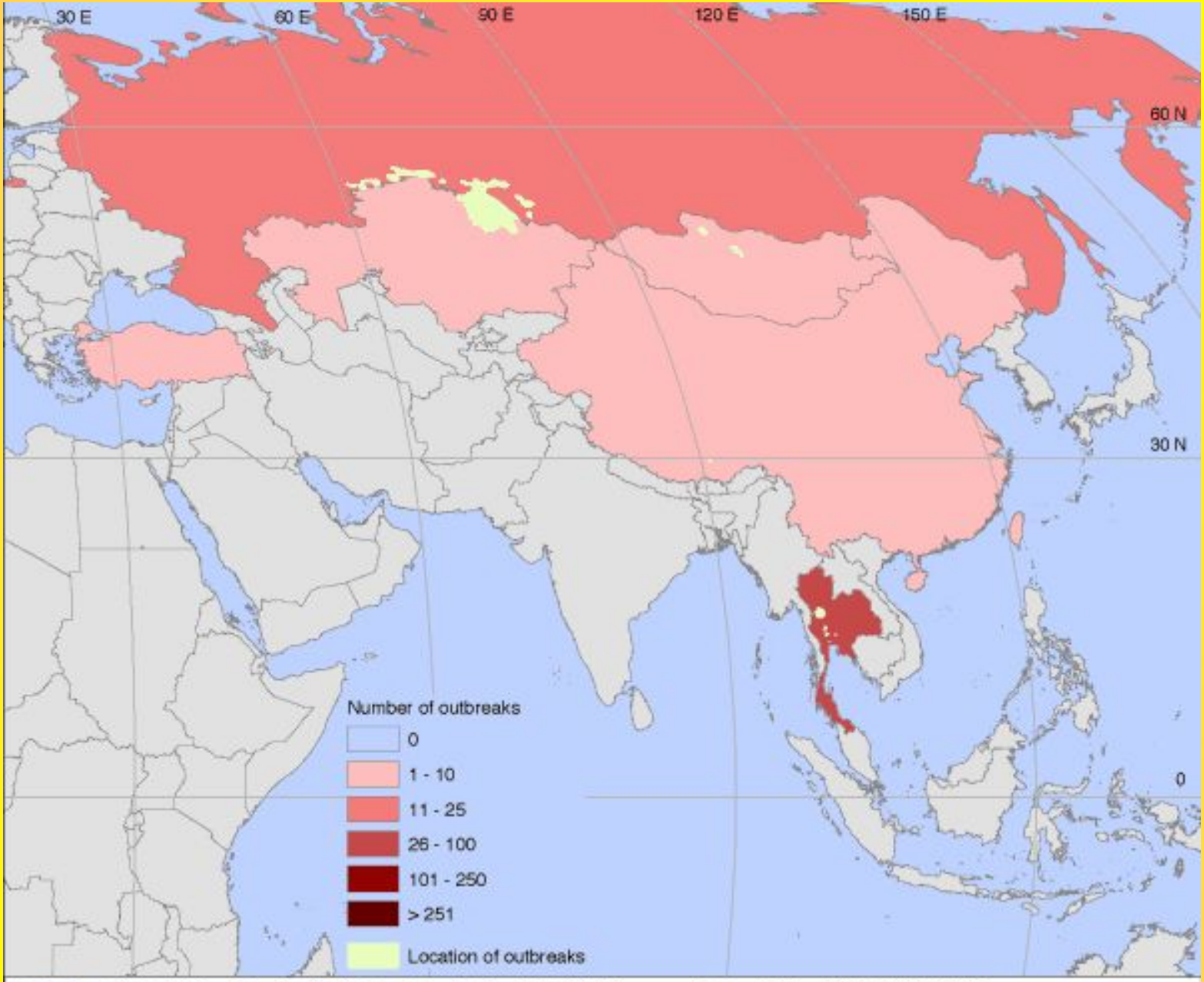
Вирион *Mixovirus influenzae*



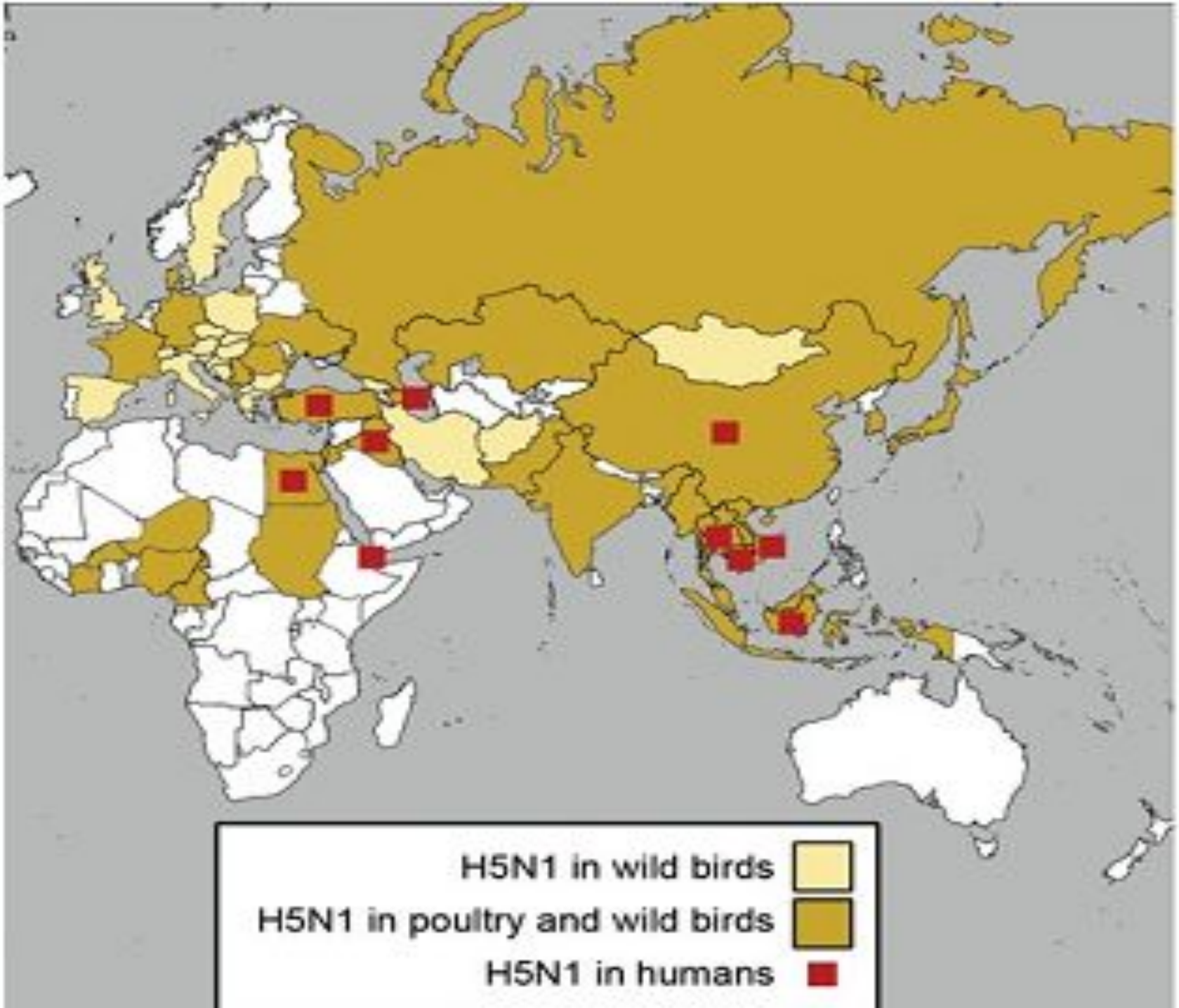
Вспышки высокопатогенного гриппа птиц в мире в 1994-2006гг.

Страна, регион	Год	Подтип	Количество пораженных птиц	Стратегия борьбы
Мексика	1994	H2N2	Точно не известно	Вакцинация
Пакистан	1995	H7N3	3 200 000	Вакцинация
Китай	1997	H5N1	1 400 000	Уничтожение
Австралия	1997	H7N4	1 600 000	Уничтожение
Италия	1997	H5N2	7 000	Уничтожение
Италия	1999	H7N1	140 000 000	Уничтожение
Чили	2002	H7N3	540 000	Уничтожение
Нидерланды	2003	H7N7	25 600 000	Уничтожение
Бельгия	2003	H7N7	2 400 000	Уничтожение
Германия	2003	H7N7	84 000	Уничтожение
Юго-Восточная Азия	2003-2004	H5N1	100 000 000	Уничтожение, вакцинация
Россия	2005-2006	H5N1	2 000 000	Уничтожение


Recent outbreaks of H5 Avian Influenza in Asia
As of: 26 February 2004 (with first dates of reporting)
(27.1.04)*
Japan
12.1.04
S. Korea
12.1.2003
Taipei China
(HKH2)
20.1.04
Hong Kong (SAR)
26.1.04
Thailand
23.1.04
27.1.04
Outbreaks in poultry
Confirmed outbreaks
Outbreaks under investigation
No outbreaks reported
Cambodia
24.1.04
Indonesia
29.1.04
Human cases (32)
(Source: European Union)



© United Nations Food and Agriculture Organization 2005. All rights reserved. Compiled by FAO AGAH, EMPRES Programme.
The figure represents the number of districts that officially reported AI outbreaks, not necessarely the exact number of outbreaks.
Data sources: OIE, FAO and Government sources. FAO assumes no responsibility for errors and omissions in the data provided.


H5N1 in wild birds
H5N1 in poultry and wild birds
H5N1 in humans

Запрудня
Вербилки
Красноозерск
Решетниково
Дмитров
Яхрома
Солнечногорск
Хотьково
Зеленоград
Побеня
Новопетровское
Королев
Истра
Дедовск
Красногорск
Мытищи
Москва
Голицыно
Одинцово
Тучково
Апрелевка
Можайск
Троицк
Наро-Фоминск
Подольск
Климовск
Чехов
Боровск
Обнинск
Серпухов
Пущино
Ступино

Высокопатогенный грипп птиц

Краткая характеристика заболевания и возбудителя

Возбудитель ГП – РНК-содержащий вирус из семейства Orthomixoviridae. Схематически строение вируса представлено на рис. 1.

Нейраминидаза (N)

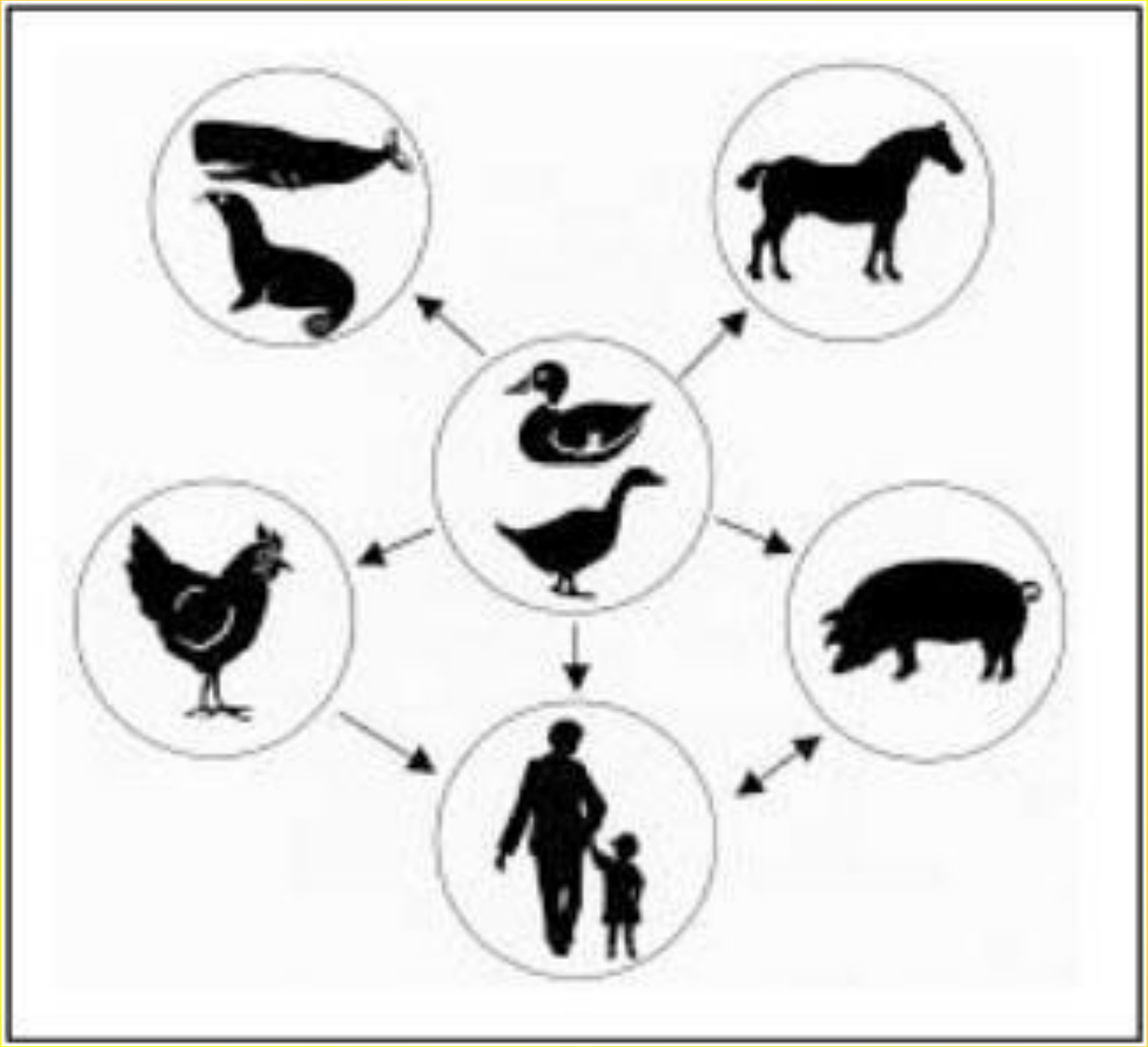
Гемагглютинин (H)

8 РНК-содержащих сегментов с нуклеопротеином

Матриксный протеин (M)

Липидная мембрана

рис. 1.



Пути изменчивости и эволюции вируса гриппа А птиц

Процесс	Характер изменений	Степень инфекции
Мутации генов (антигенный «дрейф»)	Точечные изменения в структуре поверхностных белков (немагглютинина, нераминидазы), не выводящие вирус за пределы подтипа – переход от низкопатогенных к высокопатогенным подтипам	Первичная эпизоотия
Реассортация генов (антигенный скачок или «шифт»)	Обмен генами вирусов у разных видов хозяев, что приводит к изменению поверхностных антигенов (гемагглютинин, нейраминидаза).	Эпизоотии, Панзоотии

Plush
Cat.ru

Возбудители болезней птиц, связанные с патологией человека

Гельминты	**Бациллы**	**Риккетсии**
Трематоды	Clostridium perfringens	Rickettsia rickettsia
Schistosoma spp	Cl. Botulinum	R. sibirica
Echinostoma spp	Cl. Septicum	Coxiella burneti
Heterophyes heterophyes	Erysipelothrix rhusiopathiae	**Грибки**
Metagonimus yokogawai	Brucella melitensis (suis, abortus)	Microsporum spp
Clonorchis sinensis	Francisella nsitulares	Trichophition spp
Цестоды	**Спиреллы**	Histoplasma capsulatum
Dlphyllobothrium dendriticum и некоторые другие	Vibrio metschnikovii	Aspergiliius fumigatus
Splrometra spp	V. mereagridis	Candida albicans
Простейшие	V. columbae	**Вирусы**
Toxoplasma gondii	V. spp	Ортомиксовирусы
Sarcocystis lindemanni	V. fetus	Парамиксовирусы
Бактерии	Listeria monocytogenes	Тогавирусы
Psendomonas aeryginosa	**Кокки**	Буньявирусы
Hemophilus gallinarum	Staphylococcus aureus	Реовирусы
Escherichia coli	St.pyogenes	Пикорнавирусы
Arizona hihshewii	Streptococcus spp.	Аденовирусы
Salmonella gallinarum и др. (более 25 серотипов)	**Микоплазмы**	Короновирусы
Pausterella multocida	Mycoplasma gallisepticum (melagridis, sinoviae)	Вирусы герпеса
P. anatipestifer	**Хламидии**	Вирусы оспы
Yersenia pseudotuberculosis	Chlamydia psittaci	Рабдовирусы
Y. pestis	**Спирохеты**	Парвовирусы
Mycobacterium avium	Borrelia anserina	Неклассифицированные
Corine bacterium perdicum	Leptospira interrogans	

Вид птицы	**Количество (в среднем), гол.**
Гусеобразные	
Кряква	2215429
Воробьинообразные	
Воробей домовый	54034549
Воробей полевой	15215759
Славка-черноголовка	21161336

Обнаружение антигемагглютининов к вирусу гриппа А, подтипу Н5 у воробьинообразных (Passeriformes) птиц

Русское название	Латинское название	Число обследо-ванных	Возраст положительно реагирующих	
			> года	< года
Семейство Ласточки (Hirundinidae)				
Ласточка деревенская	Hirundo rustica	5		1
Ласточка городская	Delichon urbica	2		1
Семейство Славковые (Sylviidae)				
Славка-черного-ловка	Sylvia atricapilla	23	1	3
Славка серая	S. communis	4	1	1
Славка-завирушка	S. curruca	16	2	6
Семейство Мухоловки (Muscicapidae)				
Мухоловка-пеструшка	Ficedula hypoleuca	6		1
Семейство Вьюрковые (Fringillidae)				
Зяблик	Fringilla coelebs	83	2	10
Семейство Воробьиные (Passeridae)				
Воробей домовый	Passer domesticus	39	3	15
Всего:		178	9	38

Клинические и патологоанатомические признаки заболевания

Инкубационный период заболевания ГП домашних птиц составляет от 1 до 21 дня, а при ВПГП – 1-7 дня.

Наиболее чувствительны к ВПГП куры, индейки и утки.

Различают сверхострое, острое, подострое, хроническое и субклиническое течение болезни. Симптомы и патологоанатомические признаки гриппозной инфекции сильно варьируют в зависимости от патогенности вируса, внешних факторов, вида птицы, возраста, пола, сопутствующих иммуносупрессивных инфекций (особенно ИББ, болезни Марека, инфекционной анемии, микотоксикозов и др.). Клиника включает один или несколько симптомов: потерю аппетита, вялость, взъерошенность пера, диарею, кашель, чихание, хрипы, синуситы, слезотечение, отек головы, поражение ЦНС с параличами, снижение яйценоскости (рис. 3, 4), (табл. 1).

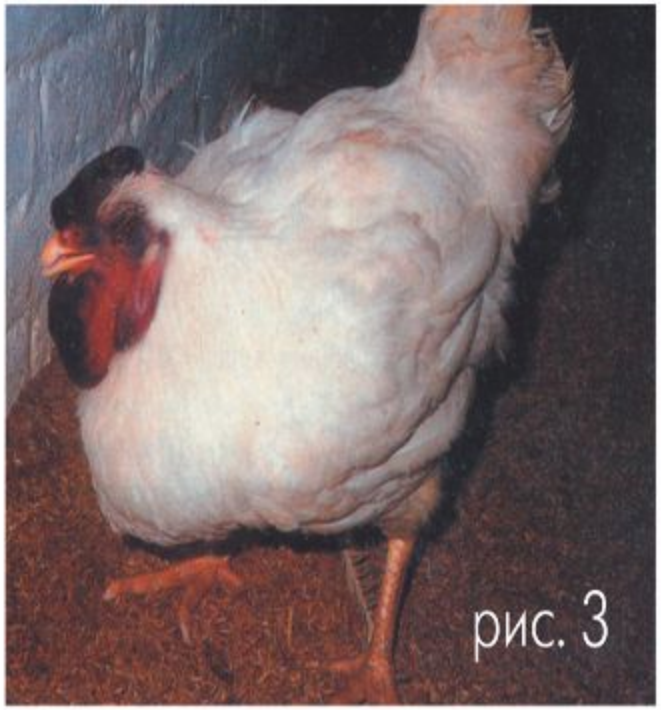


рис. 3

рис. 4

ИПС в с. Мамонтово,
Алтайского края

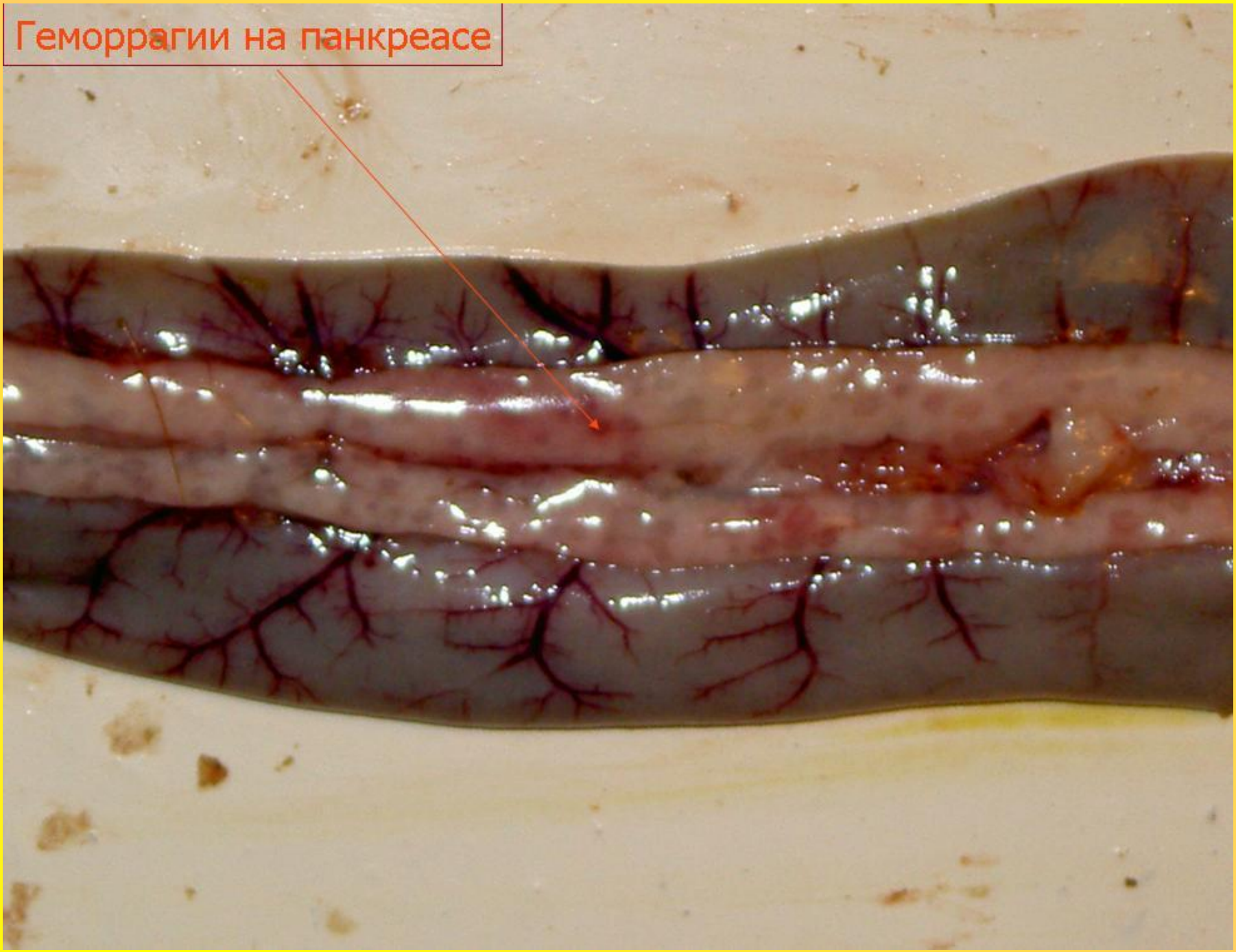
Симптомы у курицы

ИПС в с. Мамонтово,
Алтайского края

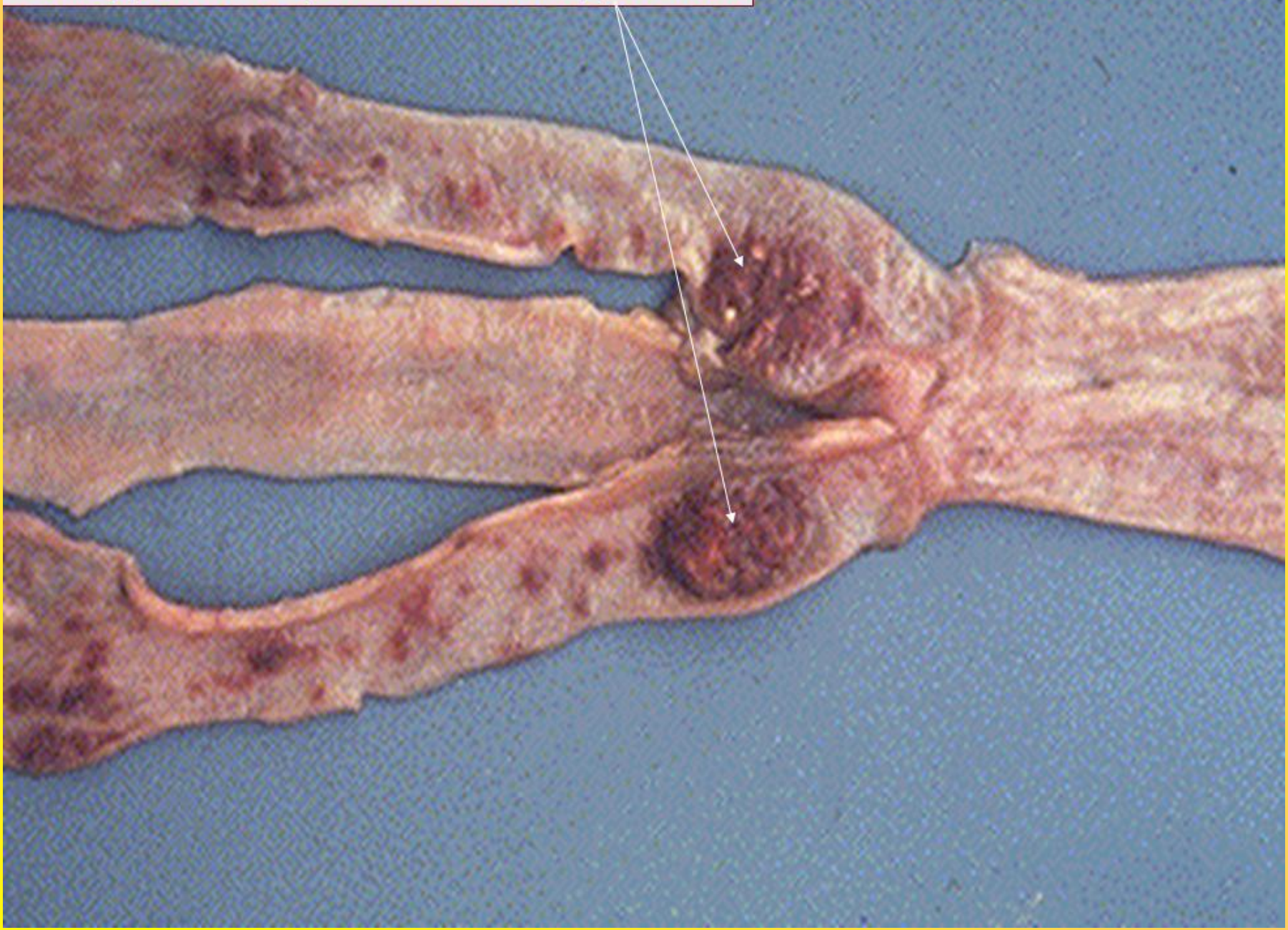
Серозно-фибринозный перикардит

Геморрагическое кольцо в слизистой оболочке на границе железистого и мышечного желудков

Геморрагии в гортани и трахее


Геморрагии на панкреасе

Геморрагии в цекальных миндалинах

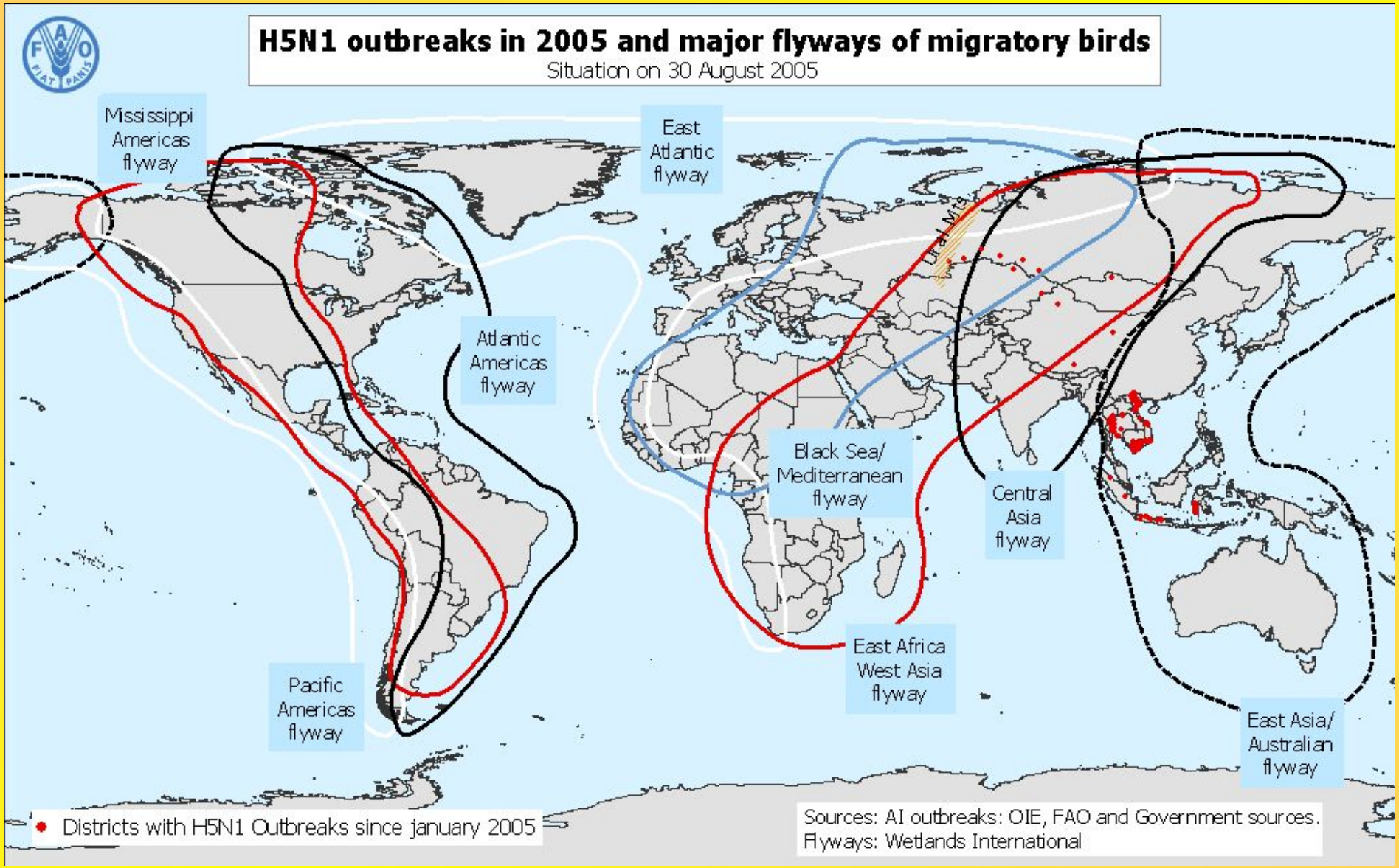


Кератит и катаракта

Таблица 2

Серологический мониторинг и выделение вируса

Серологические исследования	Вирусологические исследования
РТГА и ИФА с парными сыворотками с интервалом в 3-4 недели и антигенами разных сероварианторов (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10) • Положительный результат при 4-х кратном повышении титров антигемагглютининов • Обнаружение высокопатогенных сероварианторов H5 и H7, вызывающих ВПГП	Отбор патматериала (головной мозг, содержимое подглазничных синусов, пробы внутренних органов с изменениями)
	Доставка в 50% глицерине или замороженном виде
	Получение супернатанта из гомогената патматериала
	Инокуляция в 10-11-суточные эмбрионы кур и термостатирование в течение 24-72 ч
	Идентификация • РГА • РТГА с положительными сыворотками • РИФ • РН • ПЦР
	Определение вирулентности на 5-недельных цыплятах и в культуре клеток (бляшкообразование)

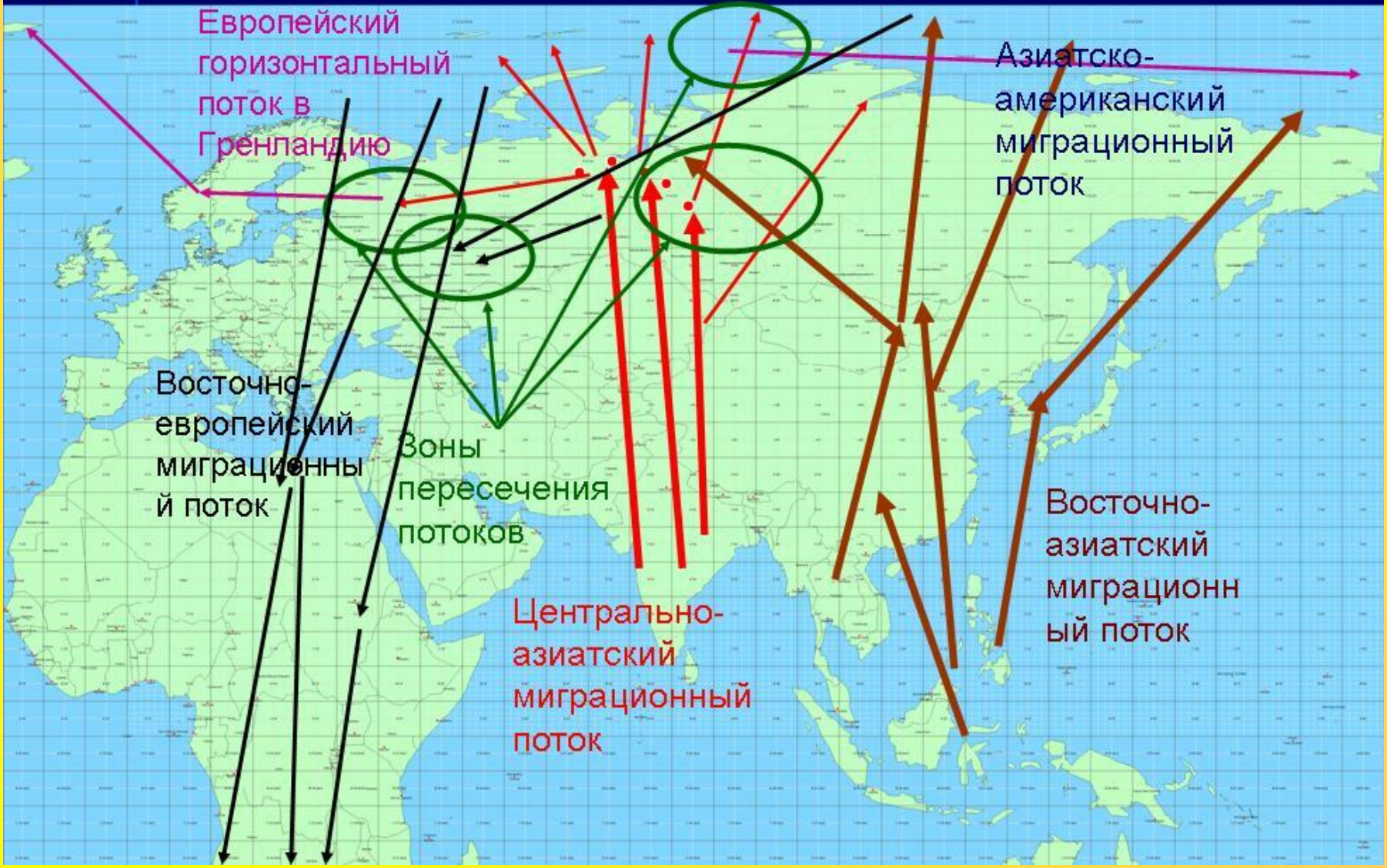

H5N1 outbreaks in 2005 and major flyways of migratory birds
Situation on 30 August 2005
Mississippi Americas flyway
East Atlantic flyway
Atlantic Americas flyway
Black Sea/ Mediterranean flyway
Central Asia flyway
East Africa West Asia flyway
Pacific Americas flyway
East Asia/ Australian flyway
Ural Mts
Districts with H5N1 Outbreaks since january 2005
Sources: AI outbreaks: OIE, FAO and Government sources.
Flyways: Wetlands International

Восточно-азиатский путь миграции птиц

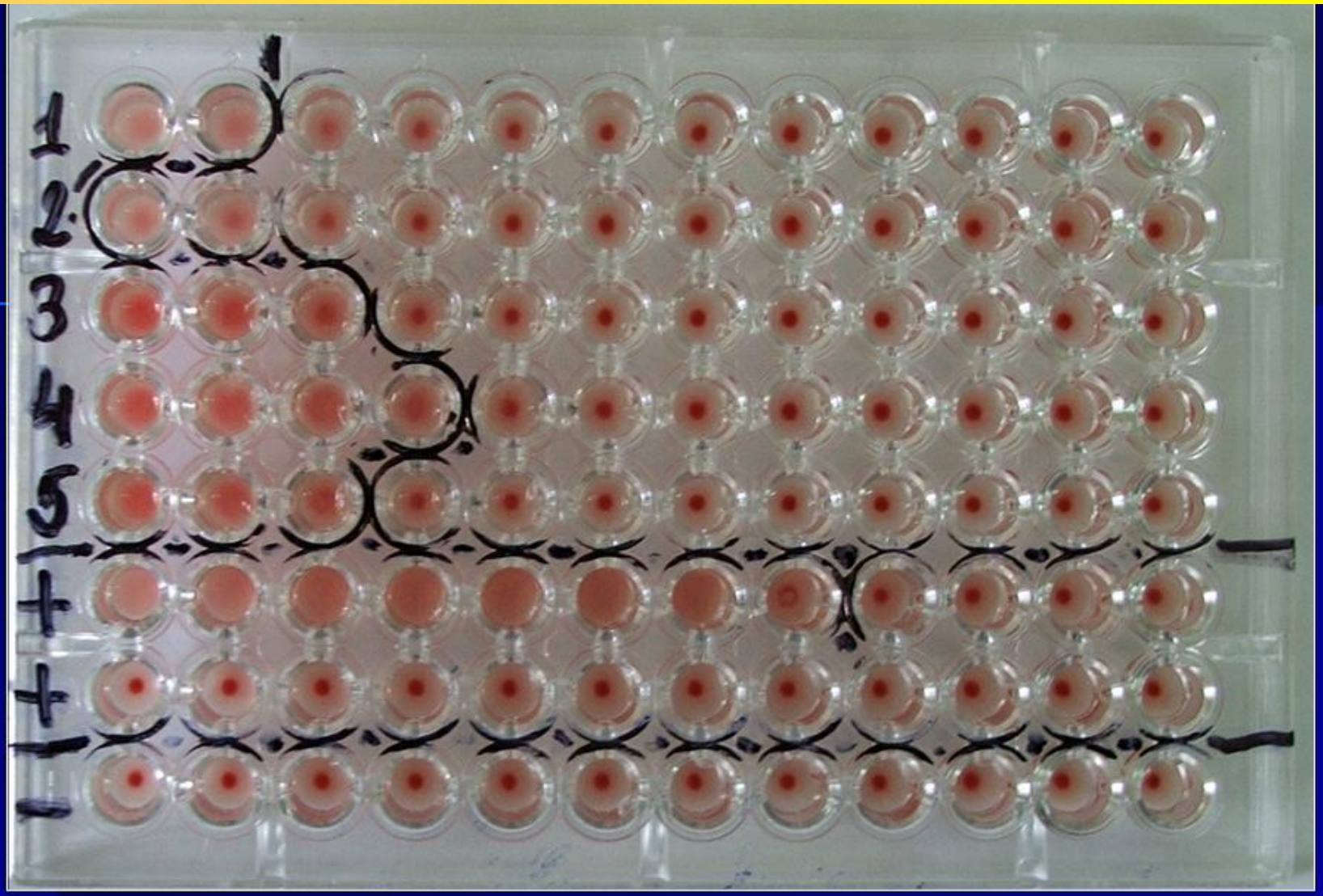
Центрально-азиатский путь

Евразийско-австралийский путь

Основные и горизонтальные миграционные потоки в России



Диагностическая лаборатория



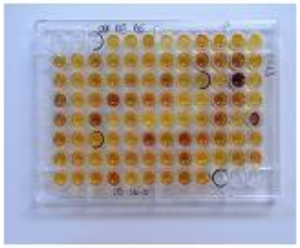
+ - положительный контроль, раститрованный в 2 ряда, титр 1 : 256

- - отрицательный контроль (ЭЭЖ СПФ-эмбрионов)

пробы № 3, 4 и 5 являются положительными, т. е. в них присутствует антиген гриппа птиц типа А.

ELISA-тест (ИФА)

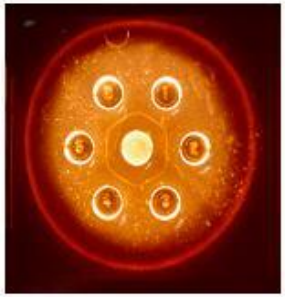
ELISA



Not subtype specific

+ →

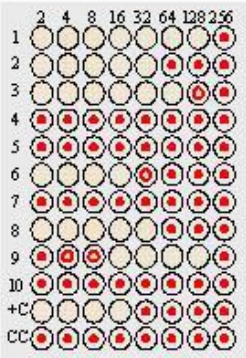
AGID



Not subtype specific

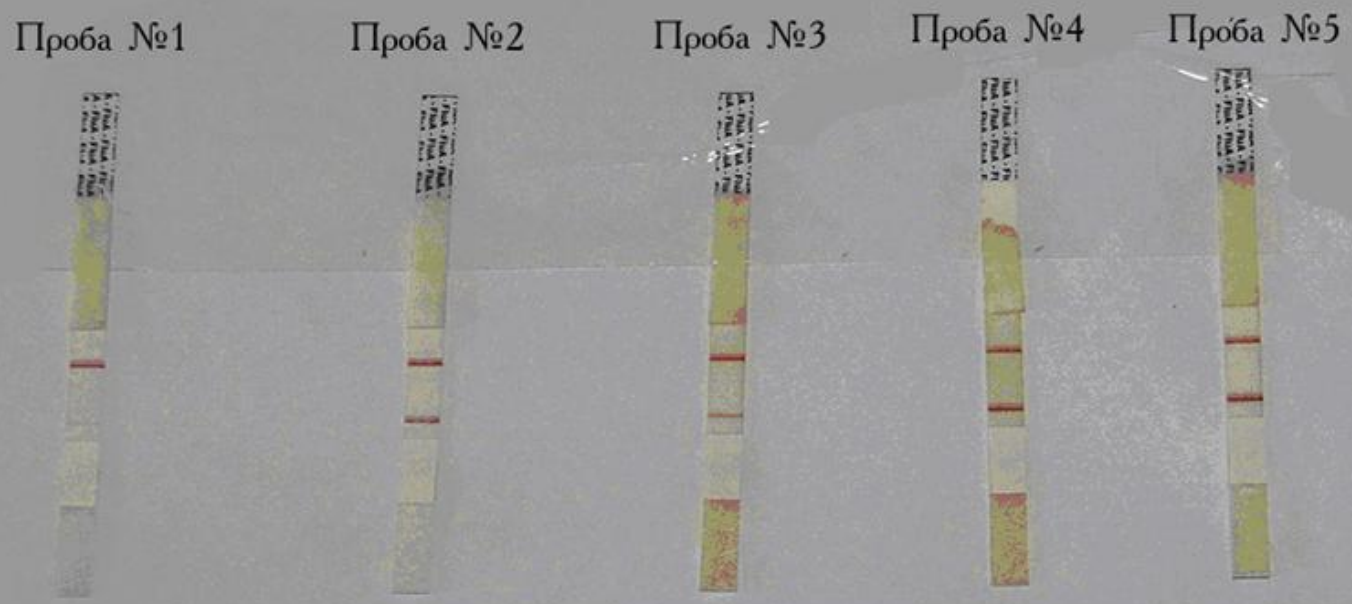
+ →

HI



Identify subtypes
H5 and H7

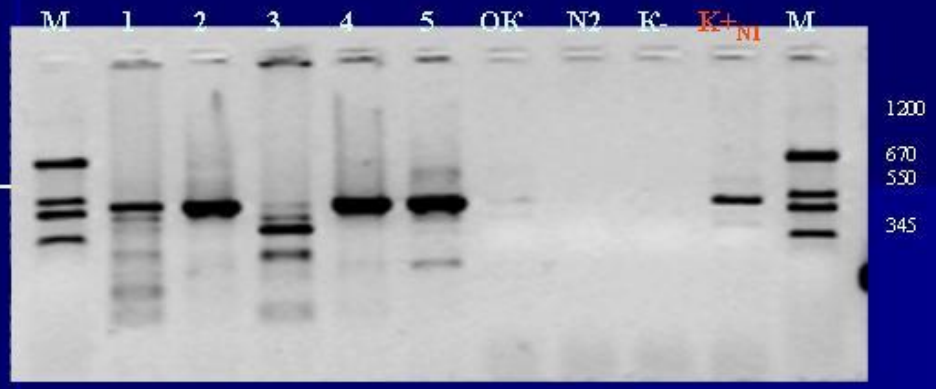
Результаты исследования суспензии органов птиц
с применением экспресс-теста для выявления антигена вируса гриппа типа А
Flu Detect Test Strip (Influenza Type A Antigen Test Kit)
производство фирмы SYNBIOTICS USA.



Наличие двух полос свидетельствует
о положительном результате реакции.

По результатам теста пробы № 2, 3, 4, 5 – положительные, т. к. в них присутствует антиген гриппа типа А.

Данные по структуре генов гемагглютинина и нейраминидазы изолятов из Новосибирской области.



Электрофореграмма продуктов амплификации. Идентификация гриппа А субтип N1, праймеры, рекомендованные ВОЗ. Данные получены ФГУ ВГНКИ

М – маркер
ОК – отрицательный контроль экстракции РНК
N2 – к ДНК штамма **H5N2**
К- - отрицательный контроль ПЦР
К+$_{N1}$ – положительный контроль ПЦР (к ДНК штамма **H1N1**)

Описание материала (треки, обозначенные 1, 2, 3, 4, 5)
проба №1 – гомогенат внутренних органов (селезенка, трахея, легкие, мозг) от двух домашних уток из ч. сектора;
проба №2 – гомогенат внутренних органов (селезенка, трахея, легкие, мозг) от домашней утки из частного сектора;
проба №3 – гомогенат внутренних органов (селезенка, трахея, легкие, мозг) от дикой утки;
проба №4 – гомогенат внутренних органов (селезенка, трахея, легкие, мозг) от гуся;
проба №5 – гомогенат внутренних органов (селезенка, трахея, легкие, мозг) от курицы.

Заражение РКЭ

ПТИЧИЙ ГРИПП НЕ ПРОЙДЕТ! ОДНОЗНАЧНО!
ВТОРОЙ СЕЗОН
ПРЕКРАСНАЯ ПРИРОДА СИБИРИ

Обязательные мероприятия в очаге и неблагополучном пункте

- вводят карантин
- бескровный убой птиц
- прекращают инкубацию, прием молодняка, завоз кормов
- яйца и мясо, полученные от условно здоровых птиц, подвергают термической обработке и реализуют на меланж, консервы и др.
- вакцинация в угрожаемой зоне и запрет ее в зоне наблюдения
- снятие карантина после мероприятий, но не ранее 21 сут. со дня уничтожения поголовья и переработки условно здоровых птиц, заключительной дезинфекции.

КАРАНТИН

Бескровный убой птиц

PRAXAIR
2187

PRAXAIR
P347-05

Super
Save
Disposal
533-4423
30284
Super
Save
Disposal
533-4423
Super
Save
Disposal

Утилизация трупов птиц

12/10/2005

10/10/2005

Грипп птиц

(Grippus avium) H_5N_1

MNC
MOSCOW

Photo Archive

ВНИВИ птицеводства
г.СПб., Ломоносов, ул Черн

ВАКЦИНА ИНАКТИВИРОВА
БИВАЛЕНТНАЯ ПРОТИ
ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ГР
ПТИЦ (ВПГП)
ПОДТИПОВ H_5 + H

объём: 450 мл. доз: 6

серия опытная

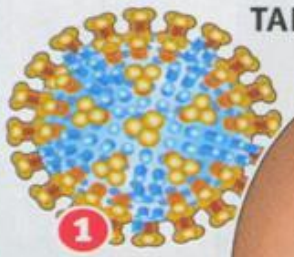
Сероконверсия антител у цыплят в РТГА, привитых моно- и бивалентной вакциной ВНИВИП против ВПГП

№ п/п	Группы птиц	Титры антител, в log_2			
		H5*	H5+	H7*	H7+
1	Моновалентная вакцина	9,60	10,85	0	0
2	Бивалентная вакцина	7,58	9,47	9,82	10,32
3	Не вакцинированная	0	0	0	0

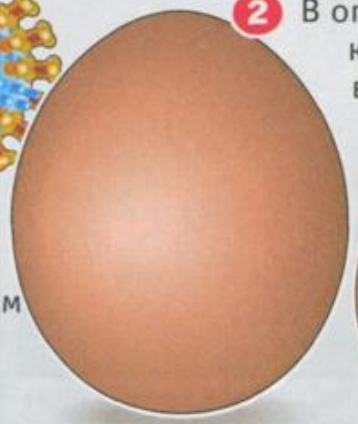
КАК ДЕЛАЮТ ВАКЦИНУ ПРОТИВ ГРИППА?

Стандартный процесс получения вакцины против гриппа занимает 6 месяцев. Он был разработан более 50 лет назад. Вакцина традиционно создается на основе куриных яиц. Сегодня и угроза птичьего гриппа, и стремление ускорить процесс получения вакцины заставляют ученых искать новые пути.

ТАК ЭТО ДЕЛАЮТ ПОСЛЕДНИЕ 50 ЛЕТ



1 Идентифицирован новый штамм гриппа.



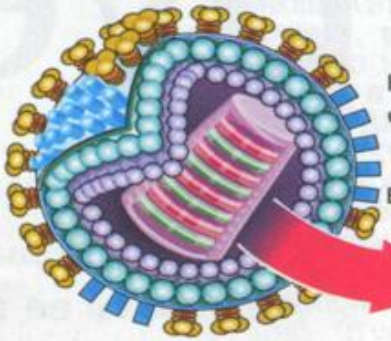
2 В оплодотворенное куриное яйцо вводят вирус.

Он размножается и заполняет яйцо. Затем содержимое вынимают,

3 очищают от посторонних примесей, с помощью химических веществ деактивируют вирус – вакцина готова.

На все это требуется полгода.
Необходимая доза для прививки – 90 мкг.

КАК ЭТО ПРЕДЛАГАЮТ ДЕЛАТЬ СЕГОДНЯ



ДНК вируса помещают на микроскопическую крупинку золота – вакцина готова.

Иглы не нужны: крупинкой с вакциной "заряжают" гелиевую помпу.

Вместо 6 месяцев требуется всего 7 дней.
Необходимая доза – 2 мкг.

В поверхностном слое кожи, куда попадает вакцина, ее быстро находят иммунные клетки и запоминают вирус. Формируется иммунитет.

Вакцина

- **Новая, произведенная методом генной инженерии учеными CDC вакцина, является не связанной с яйцами и неадъювантной.** Hoelscher MA at al. Lancet. 2006 Feb 11;367(9509):475-81.
- **Похожая вакцина - вакцина аденовирусного типа против гриппа А, направленная против белка гемагглютинина (НА) А/Вьетнам/1203/2004 (H5N1) (VN/1203/04) - выделена во время вспышки с летальными человеческкими случаями во Вьетнаме с 2003 по 2005.**
  - Gao W et al. Protection of mice and poultry from lethal H5N1 avian influenza virus through adenovirus-based immunization. J Virol. 2006 Feb;80(4):1959-64.