



Серологический мониторинг низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9 в РФ.

Ветеринарный врач референтной
лаборатории вирусных болезней
птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Осипова Ольга Сергеевна



Грипп птиц – острое инфекционное заболевание домашних и диких птиц различных видов, возбудителем которого является РНК-содержащий вирус, относящийся к роду *Alphainfluenzavirus* семейства *Orthomyxoviridae*.

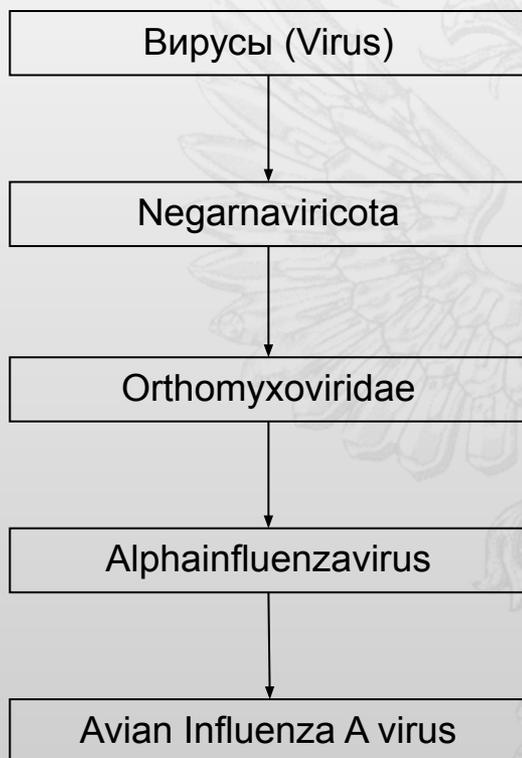


Рис. 1. Таксономическое положение вирусов гриппа птиц.

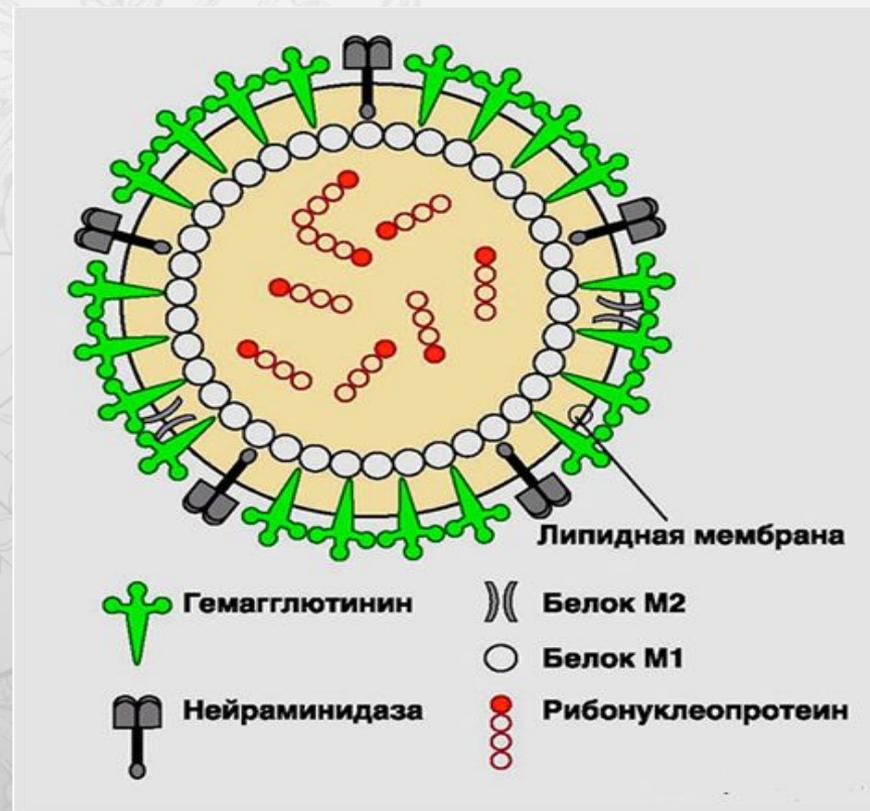


Рис. 2. Схема строения вириона вируса гриппа птиц.

Грипп птиц



- **высокопатогенный**
грипп птиц
(H5, H7)
- **низкопатогенный**
грипп птиц
(H3, H4, H6, H9, H10,
H12, H13)



Распространение вируса ГП подтипа H9



A Global Perspective on H9N2 Avian Influenza Virus

T(homas). P. Peacock Joe James , Joshua E. Sealy and Munir Iqbal Viruses 2019, 11, 620



Вирус гриппа птиц подтипа Н9 вызывает следующие клинические признаки у молодняка:

- анорексия и респираторные расстройства, смертность составляет 2-3%.



Выявление низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9 в Российской Федерации:

2018 г. – Приморский край (Дальневосточный ФО).

2019 г. – Челябинская область (Уральский ФО),
– Забайкальский край (Дальневосточный ФО).

2020 г. – Челябинская область (Уральский ФО),
– Волгоградская область (Южный ФО),
– Пензенская область (Приволжский ФО).

2021 г. – Свердловская область (Уральский ФО),
– Удмуртская Республика, Республика Татарстан
Оренбургская область, Самарская область
(Приволжский ФО),
– Тульская область, Владимирская область,
Московская (Центральный ФО).



Разработка и производство набора ГП-РТГА-Н9 в ФГБУ «ВНИИЗЖ» - единство научных и практических подходов

Генетический анализ, выбор
изолятов, изучение
биологических свойств



Депонирование
выбранного изолята
(штамма) в ГКШМ
ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Федеральное учреждение в федеральной структуре
ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных»
ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Коллекция штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ПАСПОРТ № 2-1

Исходный (коллекционный) материал штамма «А/Швейцария/419/2018 H5N2»
вируса гриппа птиц (запатентован)
(вируса N2 в СФВ-образцах кур от 28.01.2019 г.)

Наименование и описание	
1. Номер штамма в ГКШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ»	Регистрационный номер N 113 - деп / 19-3 - КШМ ФГБУ «ВНИИЗЖ», СФАРКА N 113 - деп / 19-3 от 10.04.2019 г. Формула депонирования: коллекция штаммов депонирования.
2. Таксономическая группа	вирус отряда Асфаальтвириales семейства Тифимиферидеae роду Арфаальтвириус вируса А типа
3. Источник, метод, дата и место выделения	Вирус был выделен в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2018 г. из патологического материала кур, поступившего из ОАО «Фабрика» Нижнекамско-Промышленский край РФ. Штамм депонирован в 9-11 суток после СФВ-образцов кур в коллекцию ФГБУ «ВНИИЗЖ».
4. Авторы штамма	О.С. Осипова, В.Ю. Сосисаторова, Д.А. Ахметов, А.В. Баранов, Н.И. Чумаков, Г.В. Алексеева, Д.В. Азарфара, Н.В. Чумаков
5. Депонирование	ФГБУ «ВНИИЗЖ», Москва, Россия, в Вильямово, код Вильямово
6. Субстрат/используемая среда	активен: сохранен в коллекции депонирования
7. Периодичность хранения	Вирус N2 в СФВ-образцах кур от 28.01.2019 г. Презентационный образец N1 в СФВ-образцах кур от 10.04.2019 г.
8. Матрица хранения	информация
9. Объем флакона	1 см ³ в флаконе
10. Объем серума	40 флаконе
11. Количество параллельных проб, хранимых на депонирование (серумов в СФВ)	10 флаконе
12. Маркировка параллельных проб	ФГБУ «ВНИИЗЖ», штамм «А/Швейцария/419/2018 H5N2» - вирус гриппа птиц (вирусный коллекционный материал) - вирус N2 в СФВ-образцах кур от 28.01.2019 г., информатив от 10.02.2019 г., серум 10 x 1 г/г «ВНИИЗЖ» - образцы Вируса 1 см ³
13. Способ и условия для депонирования (серумов) материала	Температура хранения материала на вынос венту 4°С Срок хранения материала 10 лет Контроль, техническая поддержка: персонал коллекции штаммов СТУ/ВНИИЗЖ-0033-2016.

ВНИИЗЖ, Россия, Владимирская область, с/пос. Вильямово, микрорайон Вильямово
код ФПОД 36-04-04, код ФПОД 36-06-19
E-mail: vniizh@vniizh.ru



Патентование
депонированного
штамма

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

П А Т Е Н Т

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2736786

Штамм "А/Швейцария/419/2018 H5N2" вируса гриппа птиц рода Арфаальтвириус вида Инфекция А типа патента И9 для контроля вирусной и иммунологической активности вируса гриппа птиц и для изготовления биопрепаратов для диагностики и специфической профилактики гриппа птиц типа А патента И9

Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение "Федеральный центр охраны здоровья животных" (ФГБУ "ВНИИЗЖ") (RU)

Адрес: см. на обороте

Заявка № 2020115794
Приоритет изобретения: 16 апреля 2020 г.
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации: 20 ноября 2020 г.
Срок действия исключительного права на изобретение в России: 15 апреля 2040 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Иванев



Патентование
разработанного
набора и выпуск
коммерческих
серий

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

П А Т Е Н Т

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2738900

Диагностический набор для выявления антител к вирусу гриппа птиц патента И9 в реакциях торможения геммагглютинации

Патентообладатель: Федеральное государственное бюджетное учреждение "Федеральный центр охраны здоровья животных" (ФГБУ "ВНИИЗЖ") (RU)

Адрес: Осипова Ольга Сергеевна (RU), Сосисаторова Виктория Юрьевна (RU), Чумаков Николай Иванович (RU), Чумаков Иван Александрович (RU), Азарфаров Дмитрий Борисович (RU), Чумаков Нина Александровна (RU)

Заявка № 2020116657
Приоритет изобретения: 27 апреля 2020 г.
Дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений Российской Федерации: 18 декабря 2020 г.
Срок действия исключительного права на изобретение в России: 27 апреля 2040 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Иванев



В референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) был разработан набор для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H9 в реакции торможения гемагглютинации.



Определение специфичности.

Титры антител к вирусу гриппа птиц подтипа Н9 в сыворотках крови от СПФ-цыплят 3-х недельного возраста

Реакция РТГА с антигеном	Положительные/исследованные	Среднее значение титра антител ± стандартная ошибка средней, \log_2	Минимум-максимум \log_2	Титр антител положительной контрольной сыворотки к ВГП Н9N2 (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)
Н9N2 ФГБУ «ВНИИЗЖ»	0/30	1,1±0,09	0,5...2,0	11,0
Н9, GD, Нидерланды	0/30	1,3±0,09	1,0...2,0	10,0
Н9N2, IZSVe (Италия)	0/30	0,73±0,08	0,5...1,0	8,0

№	Сыворотка против:	Титр антител к вирусу ГП подтипа Н9
1	Вируса ГП подтипа Н9 (IZSVe, Италия)	1:256
2	Вируса ГП подтипа Н9 (GD, Нидерланды)	1:256
3	Вируса ГП подтипа Н1-Н8 (IZSVe, Италия)	≤1:4
4	Вируса ГП подтипа Н10-Н16 (IZSVe, Италия)	≤1:4
5	Вируса НВ (PMV1, IZSVe, Италия)	≤1:4
6	Вируса ССЯ-76 (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)	≤1:4
7	МГ (GD, Нидерланды)	≤1:4
8	Отрицательная контрольная сыворотка	≤1:4
9	Положительная контрольная сыворотка	1:1024

Исследование в РТГА референтных гомо- и гетерологичных сывороток крови кур с антигеном вируса гриппа птиц подтипа Н9



Определение воспроизводимости и правильности результатов.

Уровень антител к вирусу ГП Н9 в сыворотке крови	n=3 (3 планшета)		n=3x4 (12 планшетов)	
	Средний титр антител, log ₂	Средний КВ	Средний титр антител, log ₂	Средний КВ
Низкий	4,0±0	0	3,9±0,08	7,37
Низкий	5,0±0	0	4,75±0,13	9,52
Средний	6,0±0	0	5,83±0,11	6,67
Средний	7,0±0	0	6,75±0,13	6,7
Высокий	7,67±0,33	7,5	7,75±0,13	5,84
Высокий	8,67±0,33	6,7	8,75±0,13	5,17

Результаты исследования сывороток крови в Н9-РТГА при тестировании проб в одной и нескольких постановках реакции

№	Характеристика образца	Титр антител в РТГА, log ₂	
		1-я повторность	1-я повторность
1	Сыворотка крови к вирусу гриппа А/Н5N1	1	1
2	Нормальная сыворотка крови	1	1
3	Сыворотка крови к вирусу гриппа А/Н5N8	1	1
4	Сыворотка крови к вирусу АPMV-1 (НБ)	1	1
5	Сыворотка крови к вирусу А/Н7N3	1	1
6	Нормальная сыворотка крови	1	1
7	Сыворотка крови к вирусу А/Н5N9	1	1
8	Сыворотка крови к вирусу А/Н9N2	7	7
9	Сыворотка крови к вирусу АPMV-1 (НБ)	1	1
10	Сыворотка крови к вирусу А/Н7N1	1	1

Результаты тестирования панели сывороток IZSve (Италия) в РТГА с антигеном вируса гриппа подтипа Н9



Апробация набора на экспериментальных и полевых сыворотках крови птиц

Группа птиц	Среднее значение титра антител в РТГА с антигеном Н9 (log ₂)			
	ФГБУ «ВНИИЗЖ»		GD, Нидерланды	
	через 14 суток	через 28 суток	через 14 суток	через 28 суток
Опытная	5,85±0,16	8,15±0,13	5,0±0,15	6,55±0,17
Контрольная	1,2±0,1	1,47±0,12	1,2±0,1	1,47±0,12

Выявление антител к вирусу гриппа птиц подтипа Н9 в сыворотках крови в различные сроки после иммунизации

Регион	Возраст птицы, сутки	Время после вакцинации, сутки	Средний титр антител, log ₂	Общее количество проб/из них положительных
Амурская область	38-39	30	6,77±0,26	60/60
Амурская область	38-40	18-20	6,99±0,16	60/60
Приморский край	170	более 30	8,69±0,17	40/40
Владимирская область	38-42	не вакцинированы	1,45±0,16	0/100

Выявление антител к вирусу гриппа птиц подтипа Н9 в сыворотках крови кур промышленных хозяйств

№ группы сывороток	Набор ФГБУ «ВНИИЗЖ»	Антиген Н9 GD, Нидерланды
	Общее количество проб/из них положительных	Общее количество проб/из них положительных
1	13/21	8/21
2	8/21	8/21
3	4/29	2/29
4	6/29	2/29

Выявление антител к вирусу гриппа птиц подтипа Н9 в сыворотках крови гусей в РТГА



МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сыворотки крови от домашних, диких и синантропных птиц были предоставлены для исследования Территориальными управлениями Россельхознадзора. Исследования проводили с использованием коммерческих наборов для выявления антител к вирусу гриппа птиц иммуноферментным методом при тестировании в одном разведении и для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа Н9 в реакции торможения гемагглютинации производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» согласно инструкции производителя.



В рамках эпизоотологического мониторинга в Референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» за 2021 г было исследовано 29754 пробы сыворотки крови от домашних птиц (кур и индеек) из 67 регионов Российской Федерации методом ИФА на наличие антител к вирусу гриппа птиц: 23213 проб из 149 птицеводческих хозяйств промышленного типа и 6741 проб от домашней птицы из личных подсобных хозяйств (ЛПХ) и коллективных фермерских хозяйств (КФХ).



Результаты исследования в ИФА проб сывороток крови домашних птиц на наличие антител к вирусу гриппа птиц

№	Федеральный округ РФ	Общее кол-во исслед-х проб по субъекту	Кол-во полож-х проб	Промышленные птицеводческие хозяйства	ЛПХ и КФХ*
1	Центральный**	7283	87	6606/87 (38 п/х)	677/0
2	Северо-Западный	3069	0	2942/9 (15 п/х)	127/0
3	Приволжский**	6771	21	6014/17 (40 п/х)	757/4
4	Уральский**	2243	480	1840/480 (13 п/х)	403/0
5	Сибирский**	1829	26	1546/26 (22 п/х)	283/0
6	Дальневосточный**	3292	12	1682/0 (10 п/х)	1610/12
7	Южный	3363	337	1654/11 (9 п/х)	1709/230
8	Северо-Кавказский**	2105	21	930/21 (2 п/х)	1175/0
Всего		29754	984	23213/750 (149п/х)	6741/246

* количество проб/количество положительных проб

** субъект, в котором обнаружены поствакцинальные антитела

- жирным шрифтом выделены регионы, в которых обнаружены постинфекционные антитела



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОБ СЫВОРОТОК КРОВИ ПТИЦ НА НАЛИЧИЕ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ГП ПОДТИПА Н9 В РТГА

№	Субъект РФ	Общее кол-во исследуемых проб по субъекту	Количество положительных проб	Вид птицы	Титр min/max (log ₂)
1	Астраханская область	150	0	куры ¹ (1 п/х)	-
2	Белгородская область	87	87	куры ¹ (1 п/х)	4,0/8,0
3	Волгоградская область*	187	187	куры ¹ (1 п/х)	4,0/9,0
4	Вологодская область*	12	11	куры ¹	2,0/10,0
5	Омская область	26	26	куры ¹ (1 п/х)	4,0/6,0
6	Пермский край	17	17	куры ¹ (1 п/х)	4,0/7,0
7	Приморский край	49	33	куры ²	4,0/9,0
8	Ростовская область	201	0	куры ²	-
9	Республика Адыгея	38	15	куры ²	4,0/6,0
10	Республика Татарстан*	145	13	индейки ² , гуси ² , голуби ³	2,0/5,0 2,0/6,0 1,0/4,0
11	Республика Коми	72	10	куры ¹	4,0/8,0
12	Ставропольский край	21	21	куры ¹ (1 п/х)	4,0/7,0
13	Свердловская область*	475	347	куры ¹ (4 п/х)	4,0/10,0
14	Самарская область	20	20	голуби ³	2,0/4,0
15	Челябинская область	605	541	куры ¹ (3 п/х), гуси ² (2 п/х)	4,0/10,0 ; 3,0/7,0
16	Чувашская Республика*	100	43	куры ² , гуси ²	4,0/5,0 ; 2,0/5,0
Всего:		2205	1371		

*-субъект, в котором выявлены постинфекционные антитела

¹-промышленное птицеводческое хозяйство

²-ЛПХ и КФХ

³-синантропная птица



В результате проведенного мониторинга можно сделать вывод о циркуляции низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9 среди домашних и синантропных птиц на территории Российской Федерации. Применение набора для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H9 в реакции торможения гемагглютинации обеспечивает контроль эффективности вакцинных препаратов против гриппа птиц подтипа H9 и позволяет проводить серологический мониторинг распространения инфекции в популяциях сельскохозяйственных птиц.



Выражаю благодарность сотрудникам
референтной лаборатории МЭБ по
гриппу птиц и Ньюкаслской болезни
за вклад в проделанную работу





Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

Контакты:

Тел.: +7 (4922) 26-15-12, доб. 23-34

(проведение исследований в референтной лаборатории вирусных болезней птиц)

Электронная почта: arriah@fsvps.gov.ru

