

DOI CrossRef: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-7-17
УДК 636.5:636.089

Грипп птиц. Специфическая профилактика



Фролов А.В.
Frolov A.V.

Фролов А.В.¹, ведущий специалист
Панкратов С.В.¹, к.в.н., зам. директора по качеству
Рождественская Т.Н.^{1,2}, д.в.н., директор по науке¹,
заведующий лабораторией болезней птиц²
Норкина С.Н.¹, к.б.н., директор по производству
Шестопалов А.М.^{3,4}, д.б.н., профессор, директор,
shestopalov2@mail.ru

¹Общество с ограниченной ответственностью "Научно-производственное предприятие "АВИВАК"
Санкт-Петербург, avivac@list.ru

²Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук", (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), admin@viev.ru

³Евразийского института зоонозных инфекций
ФИЦ ФТМ

⁴Федеральный Исследовательский Центр
Фундаментальной и Трансляционной Медицины, г.
Новосибирск, (ФИЦ ФТМ, shestopalov2@mail.ru

Ключевые слова: Грипп птиц, ньюкаслская болезнь, низкопатогенный вирус гриппа птиц, H9N2, высокопатогенный вирус гриппа птиц, H5N1, диагностика, специфическая профилактика, вакцина, антигенная активность

Резюме. Когда в профессиональном сообществе говорят о гриппе птиц, в первую очередь подразумевают заболевание, вызванное высокопатогенным вирусом гриппа типа А, подтипа H5N1, что несколько отвлекает внимание от не менее серьезной проблемы, гриппа птиц, вызываемого низкопатогенным вирусом подтипа H9N2, который имеет широкое распространение во всем мире. Наибольшее распространение низкопатогенный вирус гриппа птиц получил в странах Азии, особенно в Китае, также неблагополучными регионами по гриппу H9N2 считаются Ближний Восток и Северная Африка.

Вирус гриппа подтипа H9, несмотря на его низкую вирулентность, способен, на фоне скрытых инфекций и нарушений санитарно-зоотехнических параметров выращивания и содержания птицы, вызывать клинически выраженное проявление болезни. При смешанных инфекциях, как вирусной, так и бактериальной этиологии вирус гриппа

Avian influenza. Specific prevention

Frolov A.V., SPE "AVIVAC"

Pankratov S.V., SPE "AVIVAC"

Rozhdestvenskaya T.N., ¹SPE "AVIVAC", ²Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Center VIEV"

Norkina S.N., SPE "AVIVAC"

Shestopalov A.M., FRC FTM

Key words: Avian influenza, Newcastle disease, low pathogenic avian influenza virus H9N2, highly pathogenic avian influenza virus H5N1, diagnostics, specific prevention, vaccine, antigenic activity.

Abstract. When today in the modern world community we talk about avian influenza, they first of all mean a disease caused by a highly pathogenic influenza virus type A, subtype H5N1, which somewhat diverted attention from an equally serious problem, avian influenza caused by a low pathogenic virus of the H9N2 subtype, which is widespread throughout the world. The most widespread low-pathogenic avian influenza virus was found in Asian countries, especially in China, and the Middle East and North Africa are also considered to be disadvantaged regions for H9N2 influenza. The influenza virus of the H9 subtype, despite its low virulence, is capable, against the background of latent infections and violations of the sanitary-zootechnical parameters of growing and keeping poultry, to cause a clinically pronounced manifestation of the disease. With mixed infections, both viral and bacterial etiology, the H9 influenza virus contributes to the development of respiratory syndrome in birds, especially in association with viruses of laryngotracheitis of birds, Newcastle infectious bronchitis of chickens, the causative agent of respiratory mycoplasmosis of birds, etc. All this leads to serious economic losses, associated with mortality, culling and a decrease in the productivity of poultry, deterioration in feed conversion and the implementation of health-improving and preventive measures. The use of radical measures in the fight against avian influenza caused by a low pathogenic virus of the H9N2 subtype is economically unreasonable, in this case vaccination is the most effective and appropriate tool in disease control. The research results presented in this article show that the use of mono- and associated variants of inactivated emulsion vaccines "AVIVAC-AI-H9" and "AVIVAC-ND + AI-H9" induce the formation of protective level of antibodies to all components in immunized chickens in 30 days after single vaccination and in combination with veterinary and sanitary, organizational and economic measures to protect the economy from the introduction of infectious pathogens of birds, in combination with serological and virological monitoring, ensure the welfare of enterprises for avian influenza.

H9 способствует развитию у птиц респираторного синдрома, особенно в ассоциации с вирусами ларинготрахеита птиц, ньюкаслской болезни инфекционного бронхита кур, возбудителем респираторного микоплазмоза птиц и др. Все это ведет к серьезным экономическим потерям, связанными с падежом, выбраковкой и снижением продуктивных показателей птицы, ухудшением конверсии корма и проведением оздоровительно-профилактических мероприятий.

Использование радикальных мер в борьбе с гриппом птиц, вызванным низкопатогенным вирусом подтипа H9N2,

Для цитирования / For citation

Грипп птиц. Специфическая профилактика / Фролов А.В. [и др.] // Ветеринария и кормление. - 2020 - №7 - С.64-66.
Avian Influenza. Specific prevention / Frolov A.V. [and others] // Veterinaria i kormlenie. - 2020. - №7. - P. 64-66.

экономически необоснованно, в данном случае вакцинация является наиболее эффективным и целесообразным инструментом в контроле заболевания.

Представленные в данной статье результаты исследований показывают, что моно- и ассоциированные варианты инактивированных эмульсионных вакцин "АВИВАК-ГП-Н9" и "АВИВАК-НБ+ГП-Н9" индуцируют у иммунизированных цыплят формирование протективного уровня антител ко всем компонентам через 30 сут после однократной вакцинации и в комплексе с ветеринарно-санитарными, организационно-хозяйственными мероприятиями по охране хозяйства от заноса возбудителей заразных болезней птиц в сочетании с проведением серологического и вирусологического мониторинга, обеспечивают благополучие предприятий по гриппу птиц.

Введение

Когда сегодня в современном мировом сообществе говорят о гриппе птиц, в первую очередь подразумевают заболевание, вызванное высокопатогенным вирусом гриппа типа А, подтипа H5N1, который в 1997 году в Гонконге стал причиной массовой эпизоотии "птичьего гриппа" и виновником заболевания 18 человек, приведшего к летальному исходу у шести из них.

В середине 2003 года вирус высокопатогенного гриппа птиц (ВПГП) распространился за пределы Китая во многие страны Юго-Восточной Азии, что повлекло за собой гибель огромного количества птиц. В последующем расширились границы циркуляции вируса было связано с тем, что в мае 2005 года в Национальном природном заповеднике Озеро Кингай на северо-западе Китая возникла вспышка высокопатогенного гриппа птиц H5N1, вызвавшая заражение и гибель более 6000 птиц околородного комплекса, результатом чего стало дальнейшее распространение вируса на территории Сибири, Казахстана и Монголии [1].

В 2005 г. вирус ВПГП H5N1 продолжил свое распространение на запад на протяжении осеннего сезона в Северном полушарии, и уже в октябре он был выявлен в Турции, а впоследствии в Хорватии и Румынии, что стало первыми случаями его регистрации в Европе. Появление вируса H5N1 ВПГП в Турции и Восточной Европе стало предвестием быстрого распространения болезни по всей Европе. К декабрю 2005 г. он достиг региона Персидского залива, а к февралю/марту 2006 г. добрался до Среднего Востока и Африки, к 2007 году уже 64 страны были неблагополучны по гриппу H5N1, а количество погибшей от данного заболевания домашней и дикой птицы превысило 250 млн [2,3 и 4].

Все эти события несколько отвлекли внимание от не менее серьезной проблемы, гриппа птиц, вызываемого низкопатогенным вирусом подтипа H9N2, который имеет широкое распространение во всем мире. Наибольшее распространение низкопатогенный вирус гриппа птиц получил в странах Азии, особенно в Китае, так же неблагополучными регионами по гриппу H9N2 считаются Ближний Восток и Северная Африка.

Вирус гриппа подтипа H9, несмотря на его низкую вирулентность, способен, на фоне скрытых инфекций и

нарушений санитарно-зоотехнических параметров выращивания и содержания птицы, вызывать клинически выраженное проявление болезни. При смешанных инфекциях, как вирусной, так и бактериальной этиологии вирус гриппа H9 способствует развитию у птиц респираторного синдрома, особенно в ассоциации с вирусами ларинготрахеита птиц, ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита кур, возбудителем респираторного микоплазмоза птиц и др. Все это ведет к серьезным экономическим потерям, связанным с падежом, выбраковкой и снижением продуктивных показателей птицы, ухудшением конверсии корма и проведением оздоровительно-профилактических мероприятий.

Использование радикальных мер в борьбе с гриппом птиц, вызванным низкопатогенным вирусом подтипа H9N2, экономически необоснованно, в данном случае вакцинация является наиболее эффективным и целесообразным инструментом в контроле заболевания. Многие страны (Пакистан, Иран, Израиль, Корея, КНР и др.) используют стратегию профилактической иммунизации против гриппа H9 с целью уменьшения экономических рисков рентабельного ведения отрасли и борьбы с инфекцией [5].

Для стабилизации сложившейся ситуации важно использование препаратов на основе антигеннозначимых штаммов вируса гриппа подтипа H9N2, наиболее эпизоотически актуальных для определенных регионов.

Основываясь на секвенировании гена гемагглютинаина, выделенные на территориях Азии, Европы и Африки вирусы гриппа подтипа H9N2 объединены в несколько базовых генетических линий, представленных штаммами-прототипами: A/quail/Hong Kong/G1/97 (G1-like), A/duck/Hong Kong/Y280/9 (Y280-like), A/chicken/Beijing/1/94 (BJ94-like) и A/chicken/Korea/38349-P96323/96 (Korean-like) [6].

В РФ циркуляцию вирусов гриппа подтипа H9N2 регистрируют с 2002 г. Однако, выделенные до 2018 г изоляты были отнесены к линиям BJ94-like и Y280-like, а, начиная с 2018г, в Дальневосточном и Восточно-Сибирском регионах выделено несколько изолятов вируса генетической линии G1-like, которые получили широкое распространение на территории Азиатской части РФ и близлежащих стран с манифестацией в Европейскую часть [7].

В данной работе представлены результаты испытаний отечественной моновалентной вакцины против гриппа птиц, изготовленной на основе низковирулентного вируса гриппа птиц (ГП) подтипа H9N2 генетической линии G1-like, в сравнении с ассоциированным ее вариантом с добавлением антигена вируса ньюкаслской болезни (НБ).

Для получения антигенов использовали вирусы гриппа птиц, штамм A/chicken/Siberia/03/2018 (H9N2) и ньюкаслской болезни, штамм "Ла-Сота". Инактивацию биологического материала проводили формалином, образцы антигенов эмульгировали с масляным адьювантом ISA-70 в соотношении 30:70.

Было изготовлено 2 варианта инактивированных эмульсионных вакцин:

- образец № 1, против низкопатогенного гриппа птиц – "АВИВАК-ГП-Н9",
- образец № 2, против низкопатогенного гриппа птиц и

Таблица 1. Динамика формирования антител после применения вакцин «АВИВАК-ГП-Н9», «АВИВАК-НБ+ГП-Н9»
Table 1. Dynamics of antibody formation after vaccine administration AVIVAC-AI-H9, AVIVAC-ND + AI-H9.

№ групп	Наименование вакцины	Среднегрупповой титр антител в РТГА, log ₂ , к вирусам					
		ГП			НБ		
		до I иммунизации	через 30 сут после I иммунизации	через 28 сут после II иммунизации	до I иммунизации	через 30 сут после I иммунизации	через 28 сут после II иммунизации
1	АВИВАК-ГП-Н9	0	10,0	11,0	0	0	0
2	АВИВАК-НБ+ГП-Н9	0	9,0	11,0	0	11,0	13,0
3	КОНТРОЛЬ	0	0	0	0	0	0

ньокаслской болезни "АВИВАК-НБ+ГП-Н9".

Все образцы вакцин были исследованы на стерильность, вязкость и безвредность согласно общепринятым методам.

Для определения антигенной активности было сформировано 3 группы СПФ-цыплят яичного кросса WHITE LEGHORNS 34-суточного возраста по 10 голов в каждой:

– птиц первой группы иммунизировали моновакциной "АВИВАК-ГП-Н9",

– птиц второй группы – ассоциированной вакциной "АВИВАК-НБ+ГП-Н9". Вакцину вводили в объеме 0,5 см³ подкожно, в область средней трети шеи.

– птиц третьей группы не иммунизировали – интактный контроль.

Через 30 сут после первой вакцинации, птиц первой и второй группы ревакцинировали аналогичными вакцинами тем же методом и той же дозировке, что и в первый раз.

Кровь для серологических исследований от птиц получали за сутки до и через 30 сут после первой, а также через 28 сут после второй иммунизации. Титр антител к вирусам ГП и НБ определяли в РТГА по общепринятой методике в соответствии с МУ №988 от 23.06.1997г; МР от 17.11.2008г. За положительный результат принимали титр антител к вирусам ГП и НБ, имеющий значение не ниже 4,0 log₂.

Изготовленные инактивированные эмульсионные вакцины представляли собой однородную эмульсию белого цвета, имели необходимую стабильность и вязкость, были стерильными и безвредными – полностью соответствовали классу подобных препаратов.

Данные по определению уровня антител в сыворотках крови птиц опытных и контрольной группы представлены в таблице 1.

Как видно из данных таб. 1, специфические антитела к вирусам ГП и НБ в сыворотках крови цыплят опытных и контрольной групп, полученных до иммунизации, обнаружены не были, то есть титр антител к данным возбудителям находился в абсолютно отрицательных значениях.

Через 30 сут после первой иммунизации у цыплят первой группы, привитых моновалентным образцом вакцины "АВИВАК-ГП-Н9", и цыплят второй группы привитых ассоциированной вакциной "АВИВАК-НБ+ГП-Н9", титр антител к ВГП вырос до протективных значений и составил 10,0 и 9,0 log₂, соответственно. Через 28 сут после ревакцинации в обеих группах наблюдался дальнейший прирост антител, причем среднегрупповой титр к ВГП у птиц, как в первой, так второй группах был выявлен в одинаковых значениях 11,0 log₂.

При исследовании сывороток крови птиц второй группы на наличие специфических антител к вирусу НБ через 30 сут после первой иммунизации среднегрупповой титр антител составил 11,0 log₂, через 28 сут. после второй иммунизации наблюдали увеличение значения титра 13,0 log₂.

При этом титры антител к вирусам ГП и НБ в сыворотках крови птиц контрольной группы на момент начала и завершения опыта находились в отрицательных значениях.

Кроме указанных серологических методов, для проведения мониторинга НПП "АВИВАК" успешно использует диагностические наборы для выявления антител к вирусу гриппа птиц методом ИФА - "ИДЕХХ", "АВИВАК - ИФА - Грипп". Данные наборы специфичны ко всем штаммам вируса гриппа птиц типа А и успешно используется для контроля [8].

Выводы

1. Анализ вышеизложенных результатов позволяет заключить, что представленные образцы моно- и ассоциированных инактивированных эмульсионных вакцин "АВИВАК-ГП-Н9" и "АВИВАК-НБ+ГП-Н9" индуцируют у иммунизированных цыплят формирование протективного уровня антител ко всем компонентам через 30 сут после однократной вакцинации.

2. Через 28 сут после ревакцинации подопытных птиц значения титров антител увеличиваются, что позволяет сделать вывод о бустерном эффекте, способствующем формированию более длительного напряженного иммунитета.

3. Применение препаратов специфической защиты в комплексе ветеринарно-санитарных, организационно-хозяйственных мероприятий по охране хозяйства от заноса возбудителей заразных болезней птиц в сочетании с проведением серологического и вирусологического мониторинга, обеспечивают благополучие предприятий по гриппу птиц.

Литература

1. Вопросы и ответы о птичьей гриппе связанные с животными, пищевыми продуктами и водой. Доклад ВОЗ. Женева, март 2007 год.
2. Костина Л.В., Забережный А.Д., Гребенникова Т.В., Антипова Н.В., Алипер Т.И., Непоклонов Е.А. Вакцины против гриппа птиц в птицеводстве. Вопросы вирусологии. 2017; 62 (2): 53 -60.
3. Von Dobschuetz S., Siembieda J., Kim M., Pinto J., Newman S. Highly Pathogenic Avian Influenza. EMPRES Transboundary Animal Diseases Bulletin. 2011; (37): 21-9.
4. Swayne D.E., Kapczynski D. Vaccines, vaccination and immunology for avian influenza viruses in poultry. In: Swayne D.E., ed. Avian Influenza. Ames, Iowa: Blackwell Publishers; 2008: 407-52.
5. Волков М. С., Варкентин А. В., Ирза В. Н. О распространении вируса низкопатогенного гриппа А/Н9Н2 в мире и на территории Российской Федерации. Проблемы искоренения болезни. Ветеринария сегодня. 2019; №3 (30): 51-56.
6. Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, Webster RG. Molecular characterization of H9N2 influenza viruses: were they the donors of the "internal genes of H5N1 viruses in Hong Kong? Proc Natl Acad Sci U S A 1999;96:9363-9367.
7. Sharshov K, Kurskaya O, Sobolev I, Leonov S, Kabilov M, Alikina T, Alekseev A, Derko A, Yushkov Y, Saito T, Uchida Y4, Mine J, Irza V, Shestopalov A. First detection of a G1like H9N2 virus in Russia, 2018. Korean J Vet Res (2019) 59(1):37-42.
8. Рождественская Т.Н. Профилактика гриппа птиц. Ветеринария и кормление. 2017 №1: 34-35

References

1. Questions and answers about avian influenza related to animals, food and water. WHO report. Geneva, March 2007.
2. Kostina L.V., Zaberezhny A.D., Grebennikova T.V., Antipova N.V., Aliper T.I., Nepoklonov E.A. Vaccines against avian influenza in poultry farming. Questions of virology. 2017; 62 (2): 53 -60.
3. Von Dobschuetz S., Siembieda J., Kim M., Pinto J., Newman S. Highly Pathogenic Avian Influenza. EMPRES Transboundary Animal Diseases Bulletin. 2011; (37): 21-9.
4. Swayne D.E., Kapczynski D. Vaccines, vaccination and immunology for avian influenza viruses in poultry. In: Swayne D.E., ed. Avian Influenza. Ames, Iowa: Blackwell Publishers; 2008: 407-52.
5. Volkov M. S., Varkentin A. V., Irza V. N. Spread of the low pathogenic influenza A / H9N2 virus in the world and on the territory of the Russian Federation. Disease eradication problems. Veterinary medicine today. 2019; №3 (30): 51-56.
6. Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, Webster RG. Molecular characterization of H9N2 influenza viruses: were they the donors of the "internal genes of H5N1 viruses in Hong Kong. Proc Natl Acad Sci U S A 1999;96:9363-9367.
7. Sharshov K, Kurskaya O, Sobolev I, Leonov S, Kabilov M, Alikina T, Alekseev A, Derko A, Yushkov Y, Saito T, Uchida Y4, Mine J, Irza V, Shestopalov A. First detection of a G1-like H9N2 virus in Russia, 2018. Korean J Vet Res (2019) 59(1):37-42.
8. Rozhdestvenskaya T.N. Prevention of avian influenza. Veterinary medicine and feeding. 2017 №1: 34-35