

MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA LABORATÓRIUM

A 2016. évi járványokért felelős, magas patogén H5N8 madárinfluenza-vírus kimutatása és jellemzése, tudományos adatok elsőként Európában

Dr. DÁN ÁDÁM

**DR. RÓNAI ZSUZSA, DR. URSU KRISZTINA
JUHÁSZ ÁGNES, OTTINGER ERNŐNÉ
LUGOSINÉ TAKÁCS ANITA**



n é b i h

Termőföldtől az asztalig



Nemzeti Referencia Laboratórium



- Madárinfluenza (AIV). **A madárinfluenza vírus laboratóriumi kimutatását kizárólag a NÉBIH Állategészségügyi Diagnosztikai Igazgatóság akkreditált laboratóriumai végezhetik**
- Baromfipestis (NDV)
- Koi Herpes vírus (KHV)
- Klasszikus sertéspestisvírus (CSF)
- PRRS
- Nyugat Nílusi Láz, Flavivírusok (WNV)
- Schmallerberg vírus (folyamatban) (SBV)

Néhány egyéb kiemelt jelentős diagnosztikai PCR rendszer



- Több mint 150 PCR vagy valós „real-time” PCR rendszer
- Lépfene
- Q láz
- Bőrcsomosódáskor (LSD) és más capripox vírus
- Nyulak vérzéses betegsége
- Reo-rota-adeno-polyoma-circo-pox-herpes- vírusok különböző állatfajokból
- Brachyspira, Mycobacterium, Mycoplasma
- Méhek betegségei
- Stb.

Tapasztalatok, projektek és eddigi munkáink az influenza vírus kutatás és diagnosztikájában



- FP7-INFLUENZA-2010. Project title: ESNIP3-European Surveillance Network for Influenza in Pigs 3.
- FP6-2005-SSP-5B-INFLUENZA. Project title: Development and enhancement of laboratory networks for avian influenza (Flu Lab Net).
- International Atomic Energy Agency Technical Cooperation Project, Joint FAO/IAEA Programme. Supporting Early Warning and Surveillance of Avian Influenza Infection in Wild and Domestic Birds and Assessing Genetic Markers for Bird Resistance.

2006-2007 H5N1 HPAI járvány



- 2006-ban AIV készenléti terv
- Új nukleinsav kivonó robotok, automata pipettázó, real-time PCR készülékek vásárlása, validálása és üzembe helyezése
- Protokollok fejlesztése, optimalizálása, validálása
- Sikeres molekuláris diagnosztika a 2006 és 2007-es járványok során, az akkori műszerpark és személyzettel (4 fő plusz egy átrendelt segítő a szerológia laboratóriumából).

2006-2007-es járvány tapasztalatainak közlése



- Szeredi, L., Dán, Á., Pálmai, N., Ursu, K., Bálint, Á., Szeleczy, Zs., Ivanics, É., Erdélyi, K., Rigó, D., Tekes, L. & Glávits, R. (2010). Tissue tropism of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus in naturally infected mute swans (*Cygnus olor*), domestic geese (*Anser anser* var. *domestica*), Pekin ducks (*Anas platyrhynchos*) and mulard ducks (*Cairina moschata* x *Anas platyrhynchos*). *Acta Veterinaria Hungarica*, 58, 133-145.
- Szeleczy, Zs., Bálint, Á., Gyarmati, P., Metreveli, G., Dán, Á., Ursu, K., Belák, S., Lomniczi, B. & Kiss, I. (2010). Characterization of two low pathogenic avian influenza viruses isolated in Hungary in 2007. *Veterinary Microbiology*, 145. 142-147.
- Szeleczy, Zs., Dán, Á., Ursu, K., Ivanics, É., Kiss, I., Erdélyi, K., Belák, S., Muller, C., P., Brown, I. H. & Bálint, Á. (2009). Four different sublineages of highly pathogenic avian influenza H5N1 introduced in Hungary in 2006–2007. *Veterinary Microbiology*, 139, 24-33.
- Pálmai, N., Erdélyi, K., Bálint, Á., Márton L., Dán, Á., Deim, Z., Ursu, K. and Glávits, R. (2007). The pathology of highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) infection in mute swans (*Cygnus olor*). *Avian Pathology*, 36, 245-249.
- Ivanics, É., Bálint Á., Pálmai N., Márton, L., Dán, Á., Ursu, K., Szeredi, L., Deim, Z., Rigó, D., Tekes, L., Zarka, P., Nagy, Eörsné, Dobos-Kovács, M. & Glávits R. (2007). Disease in Hungarian geese and duck flocks caused by highly pathogenic avian influenza strain (H5N1 subtype). *Hungarian Veterinary Journal*, 129, 387-399.
- Ivanics, É., Glávits, R., Bálint Á., Palya, V., Márton, L., Dán, Á., Ursu, K., Szeredi, L., Rigó, D., Pálmai N., Tekes, L., Dobos-Kovács, M. & Kovács, Z. (2007). Kidney damage and gout in large number in a mulard duck flock infected by H5N1 subtype avian influenza virus. *Hungarian Veterinary Journal*, 129. 535-541.
- Pálmai, N., Deim, Z., Erdélyi, K., Bálint, Á., Dán, Á., Márton, L. & Glávits, R. (2006). Gross- and histopathological lesions caused by highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) in mute swans (*Cygnus olor*). (*Előzetes közlemény*) *Hungarian Veterinary Journal*, 128, 265-272.

H5N8 HPAI 2015-ös járvány



A tavalyelőtti (2015 február 24) kacsákat érintő magas patogén H5N8 influenza járvány molekuláris biológia diagnosztikája is sikeres volt minden téren (gyors eredményközlés, pontos diagnózis, tipizálás).

Közlemények:

Bányai, K., Bistyák, T.Á., Thuma, Á., Gyuris, É., Ursu, K., Marton, Sz., Farkas, SZ.L., Hortobágyi, E., Bacsadi & Dán, Á. (2016). Neuroinvasive influenza virus A(H5N8) in fattening ducks, Hungary, 2015. *Infection, Genetics and Evolution*. 35, 221-229.

S J. Lycett, R Bodewes, A Pohlmann, J Banks, K Bányai, MF. Boni, R Bouwstra, A C. Breed, I H. Brown, H Chen, Á Dán, TJ. DeLiberto, N Diep, M Gilbert, S Hill, H S. Ip, C Wen Ke, H Kida, M L Killian, M P. Koopmans, J- Kwon, D-H Lee, Y J Lee, L Lu, I Monne, J Pasick, O G. Pybus, A Rambaut, TP. Robinson, Y Sakoda, S Zohari, C-S Song, D E. Swayne, M K Torchetti, H-J Tsai, R A. M. Fouchier, M Beer, M Woolhouse, T Kuiken. Global Consortium for H5N8 and Related Influenza Viruses. (2016). Role for migratory wild birds in the global spread of avian influenza H5N8. *Science*, 354, 213-217.

Sertés Influenza vírusok (H1N1sw, H1N1 reasszortáns, H3N2, stb.)



- Watson, S., Langat, P., Reid, S., Lam, T., Cotten, M., Kelly, M., Van Reeth, K., Qiu, K., Simon, G., Bonin, E., Foni, E., Chiapponi, C., Larsen, L., Hjulsager, C., Markowska-Daniel, I., Urbaniak, K., Dürrwald, R., Schlegel, M., Huovilainen, A., Davidson, I., Dán, Á., Loeffen, W. L., Edwards, S., Bublot, M., Vila, T. Maldonado, J., Valls, L., NFN ESNIP3 Consortium, Brown, I., Pybus, O., & Kellam, P. (2015). Molecular Epidemiology and Evolution of Influenza Viruses Circulating within European Swine between 2009 and 2013. *Journal of Virology*, 89, 9920-9931.
- Simon, G., Lars E. Larsen, L.E., Dürrwald, R., Foni, E., Harder, T., VanReeth, K., Markowska-Daniel, I., Reid, S.M., Dán, Á., Maldonado, J., Huovilainen, A., Billinis, C., Davidson, I., Agüero, M., Vila, T., Hervé, S., Breum, S. Ø., Chiapponi, C., Urbaniak, K., Constantinos S., Kyriakis, K.C., ESNIP3 consortium, Brown, I. H. & Loeffen, W. (2014). European surveillance network for influenza in pigs: surveillance programs, diagnostic tools and swine influenza virus subtypes identified in 14 European countries from 2010 to 2013. *PLOS ONE*
DOI:10.1371/journal.pone.0115815 published online, December 26, 2014.
- Bálint, Á., Kiss, I., Bányai, K., Biksi, Szentpáli-Gavallér, K., Magyar, T., Jankovics, I., Rózsa, M., Szalai, B., Takács, M., Tóth, Gy.Á. & Dán, Á. (2012). Emergence and characterization of pandemic H1N1 influenza viruses in Hungarian swine herds. *Acta Veterinaria Hungarica*, 61, 125-134.
- Bányai, K., Kovács, E., Tóth, Á., Gy., Biksi, I., Szentpáli-Gavallér K., Bálint, Á., Dencső, L. & Dán, Á. (2012). Genome sequence of a monoreassortant H1N1 swine influenza virus isolated from a pig in Hungary. *Journal of Virology*, 86, 13133.

Részvétel új módszerek validálásában és optimalizálásában:

Nagy, A., Vostinakova, V., Pirchanova, Z., Cernikova, L., Dirbakova, Z., Mojzis, M., Jirincova, H., Havlickova, M., Dán, A., Ursu, K., Vilcek, S. & Hornickova, J. (2010). Development and evaluation of a one-step real-time RT-PCR assay for universal detection of influenza A viruses from avian and mammal species. *Archives of Virology*, 155, 665-673.

Az RT-PCR rendszert az EU referencia laboratóriuma validálta és jelenleg már egy elfogadott alternatívája a jelenleg EU által javasolt AIV kimutatásra szolgáló PCR-nek.

Nagy, A., Černíková, L., Vitásková, E., Křivda, V., Dán, Á., Dirbáková, Z., Jiřincová, H., Procházka, B., Sedlák, K. & Havlíčková, M. (2016). MeltMan: optimization, evaluation, and universal application of a qPCR system integrating the TaqMan qPCR and melting analysis into a single assay. *PLOS ONE*. Published: March 31, 2016.

Kiss, I., Germán, P., Sámi, L., Antal Márta, Farkas, T., Kardos, G. Kecskeméti, S., Dán, Á. & Belák, S. (2006). Application of real-time rt-pcr utilising lux (light upon extension) fluorogenic primer for the rapid detection of avian influenza viruses. *Acta Veterinaria Hungarica*, 54, 525-533.

Általánosságok



- Influenza veszély: volt, van és lesz; **változékonyság, reasszortáció**
- A 20. és 21 század influenza pandémiáit H1N1 okozta
- Az influenza járványokat kísérő média hisztéria: részben jogos, részben nem (2005-2007/H5N1, 2009/H1N1)
- A két influenza járvány esetében valóságos hisztéria alakult ki, ami részben média felhajtás volt, részben pedig jogos félelem, mivel az influenza vírusok rendkívül könnyen változnak és az új addig ismeretlen vírus változatok esetében a járványok elején még nem tudjuk, hogy mire számítsunk a későbbiekben. Mivel előfordul, hogy a vírus emberről állatra vagy állatról emberre terjed, új vírusok esetében sokszor nem tudjuk, hogy mekkora lesz ennek a terjedésnek a mértéke.
- H5N8: 2015 és a mostani 2016-ban kezdődött, nem volt és nincs pánik: jelentős gazdasági kár- de, emberre nem veszélyes, jó média kommunikáció a hatóságok részéről

Kambodzsai piac



n é b i h
Termőföldtől az asztalig

Új vírusváltozatok,
járványok
kialakulásához
kedvező feltételek



2. kép. Forrás: Hannah: Cambodia: A morning in the market
<https://hannahinhanoi.wordpress.com/2012/02/06/cambodia-a-morning-in-the-market/>

H5N8 HPAIV 2.3.4.4. klád, 2015 Magyarország



- Ötödik és egyben utolsó ország voltunk, ahol baromfiból kimutattuk a H5N8 HPAIV-t
- Egyetlen egy érintett állomány
- Fő jellegzetesség: nagymértékű elhullás, idegrendszeri tünetek
- A több mint 20.000-es kacsza állományt leölték
- Monitoring: EU aktív H5N8 monitoring és a kitörés miatti járványtani felmérő vizsgálat (védő zóna, kontakt gazdaságok, stb)
- baromfi: több mint 1500 tojás, 2122 vérminta, 1313 kloaka és légcső tampon, 712 hulla, vadmadár 84 hulla, 734 kloaka és légcső tampon
- Összes minta negatív volt H5N8 HPAI vírusra szerológiai és molekuláris biológiai módszerekkel.**

H5N8 HPAIV 2.3.4.4. klád, 2014-2015 világszerte



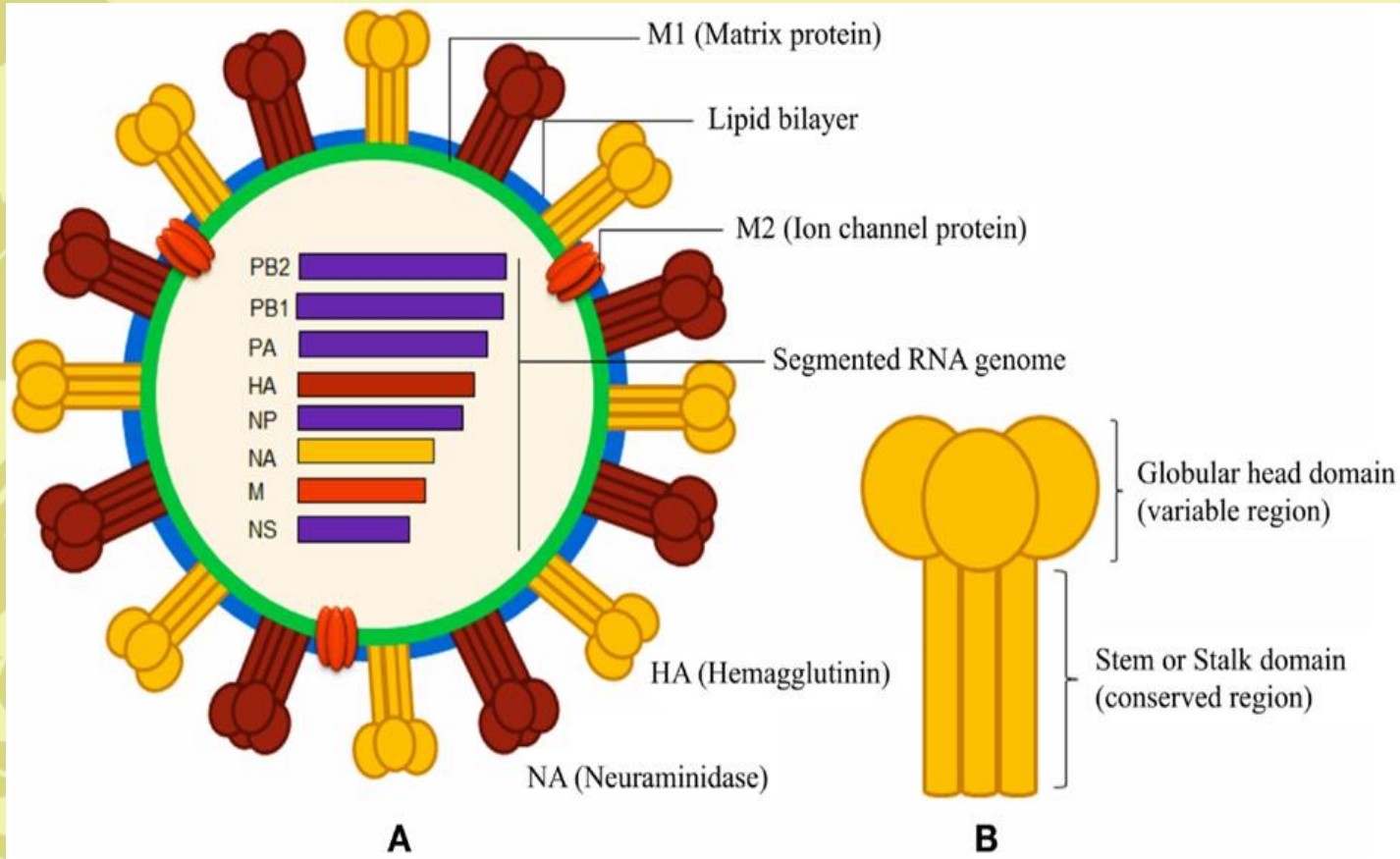
S J. Lycett, ..**Dán, Á**...Kuiken et al. Global Consortium for H5N8 and Related Influenza Viruses. (2016). Role for migratory wild birds in the global spread of avian influenza H5N8. **Science**,354, 213-217

- HPAIV H5N8 2.3.4.4. klád, Észak Korea, 2014 január gyors terjedés
- 2014–2015 már világszerte
- Járványtani nyomozásaink, vadmadarak vonulásának vizsgálata, baromfi kereskedelem elemzése, szekvencia analíziseink alapján: **a transzkontinentális vándormadaraknak fő szerepük lehet az influenzajárvány globális terjesztésében.**
- HPAIV H5 2.3.4.4 klád, gyakori reasszortáció
- Világszerte baromfiban és vadmadarakban 2004-2015 között: H5N1, H5N2, H5N3, H5N5, H5N6 és H5N8.

Az Influenza vírus

- Az *Orthomyxoviridae* vírus családba tartozó influenzavírust **három** genusba sorolják (influenza A, B és C [D]). A továbbiakban csak az **A influenza vírusról lesz szó.**
- Genomjuk **nyolc** negatív egyszálú RNS szegmensből áll (gén) és lipid tartalmú burok (lipid bilayer, envelope) veszi körül.
- Ebből a burokból nyúlnak ki a **neuraminidáz (N vagy NA)** és a **hemagglutinin (H vagy HA) felszíni fehérjéi** (glikoprotein antigének), amely alapján az Influenza A vírusokat számos altípusba lehet sorolni.
- A hemagglutininnek 16 (18) a neuraminidáznak pedig 9 (11) változata ismert. Így, elméletileg 144 HA-NA kombináció lehetséges (pl. H5N1, H1N1, H3N8, H6N2, stb).

Influenza A vírus szerkezete és a felszíni fehérjék sematikus ábrázolása.



5. kép. Képaláírás: Az Influenza A vírus szerkezete és a felszíni fehérjék sematikus ábrázolása.

Forrás: Lofano és mtsai, 2015.

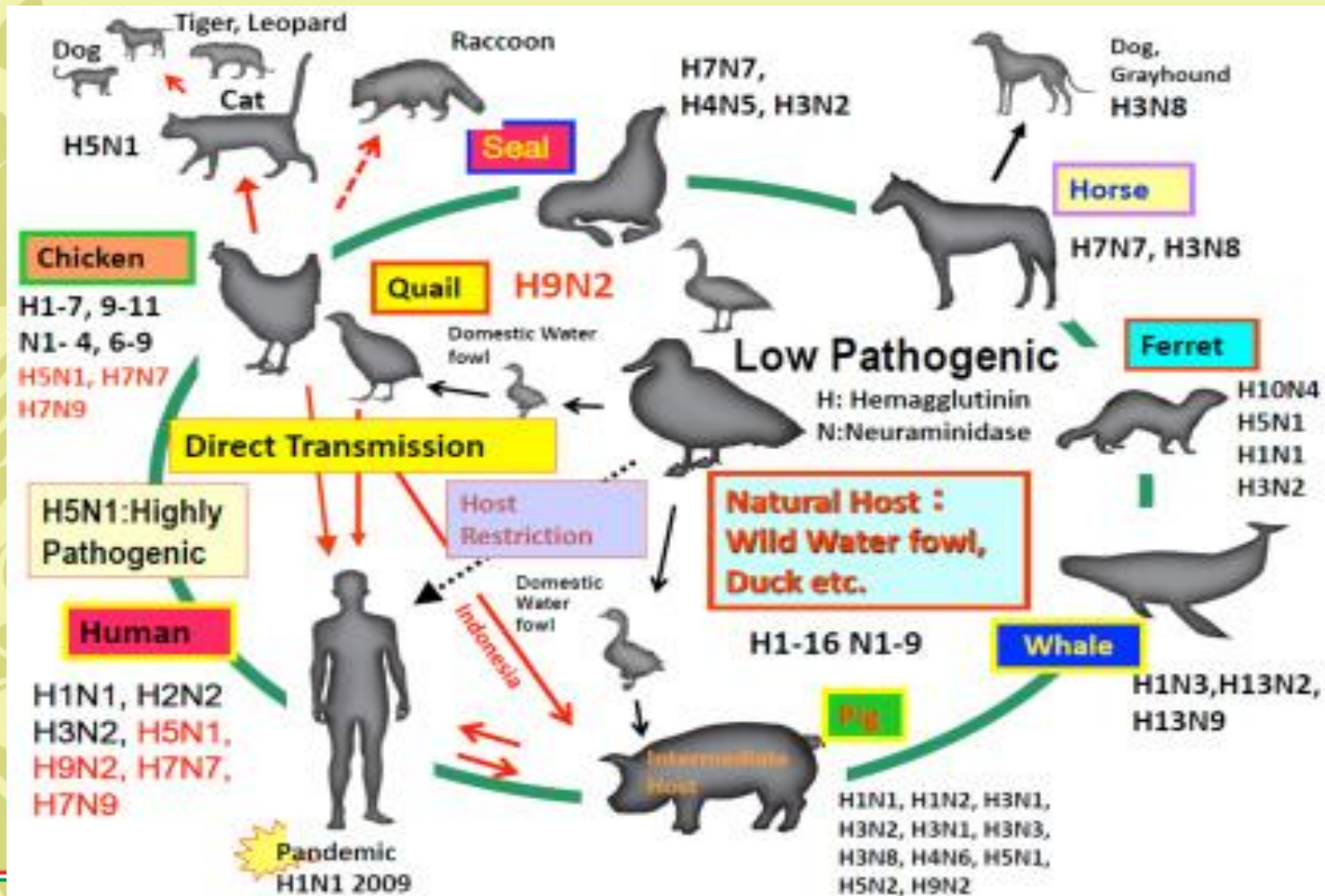
<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2015.00336/full>, Front. Immunol., 30 June 2015 | <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2015.00336>

HA, NA

- Az altípusok túlnyomó többsége csak vadmadarakat fertőz meg.
- A HA segíti a vírust tapadni és bejutni a sejtekbe, az NA pedig a lehetővé teszi, hogy a sejtben képződött új vírusok kiszabaduljanak a sejtből, így azoknak lehetőségük lesz újabb sejteket fertőzésére.
- Vírusfertőzés esetén a gazdaszervezet immunrendszere felismeri ezt a két fehérjét, immunválaszt generál, vagyis ellenük antitestet termel, így alakítván ki a védettséget vírus ellen.
- Sajnos az influenza vírusok szaporodásuk során könnyen új változatokat alakítanak ki, amelyekben ezek a felszíni fehérjék antigén szerkezete már módosult. Az új változatok ellen már csak részleges vagy egyáltalán nincs védettség és így újabb járványok alakulhatnak ki.

Az influenzavírus gazdafajai.

Az influenza A vírus természetes rezervoárjai a vízi vadmadarak.



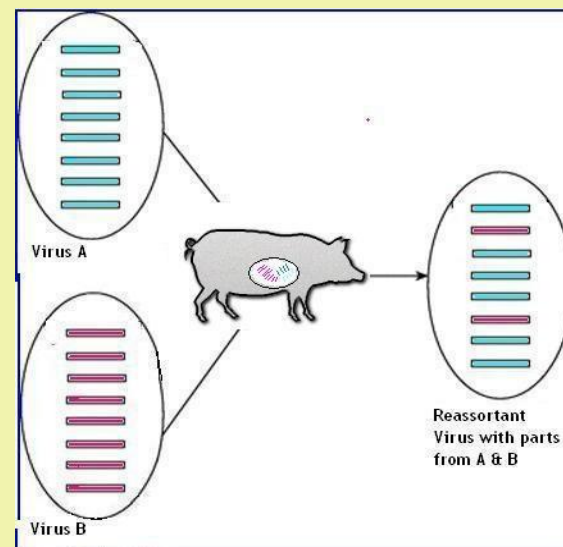
3. kép. Képaláírás: Az Influenza A gazdafajai. Az influenza A vírusnak a természetes gazdafajai a vad vízimadarak.
 Forrás: Yasuo Suzuki. Recent research on influenza virus receptor and the mechanism of its host range mutation.
<http://www.glycoforum.jp/science/glycomicrobiology/GM10/GM10E.html>

Reasszortáció

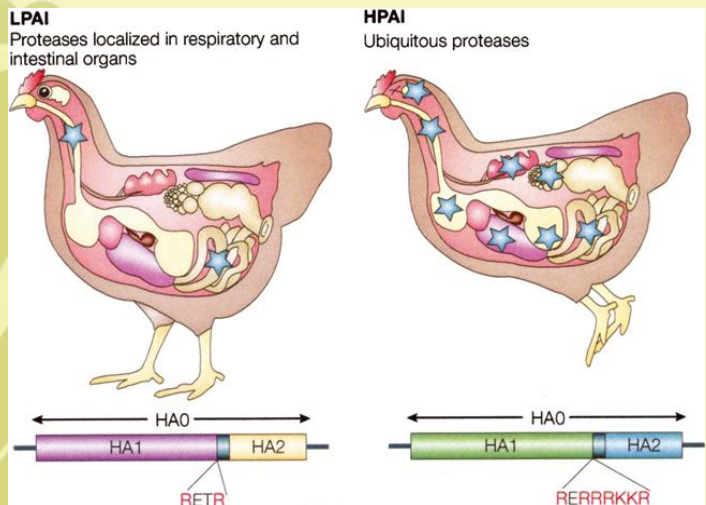
- A változások lehetnek kisebb mértékűek, amikor is pont mutációk miatt egy-egy aminosav megváltozik („antigen drift”) a fehérjében. Sokszor egy aminosav változás is elég, hogy a szervezet védtelenné váljon a vírussal szemben.

- Drasztikusabb a változás, ha két egyszerre fertőző vírus, **a 8 RNS szegmens közül egy vagy többet kicserél egymással (reasszortáció vagy „antigenic shift”)**. Ilyenkor teljesen új felépítésű vírus jön létre.

6. kép. Forrás: <http://afludiary.blogspot.hu/2010/01/mixing-vessels-for-influenza.html>



Madárinfluenza vírusok, Patogenitás



a) magas patogenitású madárinfluenza (HPAI – highly pathogenic avian influenza)-vírusok, általános fertőzöttségével járó, rendkívül komoly betegséget okoznak, az állományban igen nagy arányú (akár 100 %-os) elhullást idézve elő;

b) alacsony patogenitású madárinfluenza (LPAI – low pathogenic avian influenza)-vírusok, amelyek az enyhe, elsősorban légzőszervi baromfi-megbetegedésekért felelősek

A legerősebb megbetegítő képesség: H5 és H7. A tünetek sokfélesége, miatt a betegség megállapításához speciális, a vírust vagy annak töredékeit kimutató laboratóriumi vizsgálatokra van szükség. A membránfúzió előfeltétele a HA prekursor fehérje proteolitikus hasítása. LPA helyi, HPA ubiquiter proteázok

9. kép. Forrás: Citation: *Infection Ecology and Epidemiology* 2011, 1: 6004 - DOI: 10.3402/iee.v1i0.6004

Infection Ecology and Epidemiology 2011. © 2011 John Wahlgren. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 3.0 Unported License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), permitting all non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. „Macmillan Publishers Ltd: [Nature Reviews Microbiology] 'Influenza: lessons from past pandemics, warnings from current incidents' copyright 2005.

http://www.infectionecologyandepidemiology.net/index.php/iee/article/view/6004/html_83

Az Influenza vírus fertőzőképessége



n é b i h
Termőföldtől az asztalig

- **70°C-on a húsban pár perc**
- **Általánosan használt fertőtlenítő szerek iránt érzékenyek.**
- Függ a környezet páratartalmától, pH-jától, sók jelenlététől, napfény jelenlététől, stb.
- Külső környezetben órákig
- **Fagyasztott húsban akár hosszú évekig**
- Hűtőben tartott tojásban akár 20 napig



2016 H5N8 HPAI Első adatok Európában

E-mail Október 28: EU RL, AIV felelős EU biztos, saját feletteseim

Részleges szekvencia elemzések alapján meg tudtam állapítani, hogy a vírus:

- H5N8 HPAIV amelynek, proteolitikus vágási helye (új): PLREKRRKR/RGLF,
- ez egy új a 2014-el nem megegyező H5N8 vírus
- valószínűleg vadmadarak hozták be **Kelet Kínából**, hasonlóan a 2.3.3.kládhoz
- Ha igaz a feltételezésem, akkor **Mongoliában** is meg kell találják a vírust és Új Delhiben (**India**) is az a vírus lehet. Innen **Oroszországba**.
- Utána nagy ugrás Európába, Magyarországra
- Ez lehetetlen, a többi EU országba is ott kell legyen
- Feltételezéseim igazolva lettek
- Információk közzé tétele: **FluLabNet**, **Global Consortium for H5N8**

Humán vonatkozás



- **Summary:** The preliminary analysis conducted by the EU/OIE/FAO Avian Influenza Reference Laboratory (Weybridge-UK) on the genome of the H5N8 virus isolated in Europe in 2016, suggests that all eight genes are of avian origin. The virus is still predominantly a bird virus without any specific increased affinity for humans.
- **Acknowledgements:** We are grateful to Dr Adam Dan and colleagues at the Hungarian AI National Reference laboratory (Budapest)
- Rapid communications Highly pathogenic avian influenza A(H5N8) outbreaks: protection and management of exposed people in Europe, 2014/15 and 2016. C Adlhoch ¹, IH Brown ², SG Angelova ³, Á Bálint ⁴, R Bouwstra ⁵, S Buda ⁶, MR Castrucci ⁷, G Dabrera ⁸, Á Dán ⁴, C Grund ⁹, T Harder ⁹, W van der Hoek ¹⁰, K Krisztalovics ¹¹, F Parry-Ford ⁸, R Popescu ¹², A Wallensten ¹³, A Zdravkova ¹⁴, S Zohari ¹⁵, S Tsolova ¹, P Penttinen ¹. Eurosurveillance, Euro Surveillance. 2016;21(49):pii=30419. DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.49.30419>
- **Emberre nem veszélyes (2016 november, most 2017 február)**

Diagnosztika. Mintavétel



Légcső (trachea) tampon (ebből jobban kimutatható)

Kloaka tampon (inkább ezt küldik, mert könnyebb mintázni)

Szervek: agy, szív, hasnyálmirigy, légcső, tüdő, bél, **toll** (kísérletek is)

Felületkezelés utáni minták

Tojás: probléma, nem megbízható eredmények (szállítás, export-import?)

Takarmány: nehéz a kimutatás (több kg, tonna, honnan?)

- AI kitörés miatt: gyanú, szűrés, hatósági, vágóhídra
- Baromfi, vadmadár, díszmadarak

Protokollok. RNS Kivonás



RNS kivonás:

- Roche Magnapure 96, Magnapure 96 DNA and Viral NA Small Volume kit
- KingFisher Flex with Magattract Virus Mini M 48kit
- 2000-3800 minta naponta

Sürgős minták esetén: (4-6 órán belül eredmény)

- Qiamp Viral Mini kit

Protokollok, RT-PCR



n é b i h
Termőföldtől az asztalig

Valamennyi módszer EU diagnosztikai útmutatása alapján:

Szűrés: (egyedi minta, 5-ös pool)

- M gene real-time RT-PCR EU manual (EU-CRL)
- Nagy et al. real-time RT-PCR (validated EU-CRL)
- H5 real-time RT-PCR

Eredmények: 2000-3800 minta naponta

Minta feldolgozása kezdődik 6 órakor:

eredmények: 20-22 órára

2-4 sürgős minta (4-6 óra)/naponta

Pozitív minták: H5, N8, H7, N1 real-time RT-PCR is, majd szekvenálással megerősítés

Más diagnosztikai módszerek



- Klasszikus Virologiai módszerek
 - Izolálás
 - Hemagglutináció gátlás (eddig minden minta negatív)
 - Szövettan
 - IF
 - Klinikai tünetek, kórbonctan (gyanú)
- A gyakorlatban: gyors válasz intézkedésekhez, megerősítő vizsgálat, megállapítás csak RT-PCR és szekvenálás

Diagnosztika. Nehézségek, kockázat és felelőség



- Sürgős minták (eredmény 4-6 órán belül), telefonos érdeklődések
- Meghosszabbított rendkívüli munkaidő: napi 12-16 óra, hétvége
- Egyéb rutin és körvizsgálatok (SBV, PRRS, LSD, CSF, stb)
- Minták száma: napi 4000 is volt
- Sok minta: kontamináció veszély
- Adminisztráció, levelezés, stb. (köszönet Turák Juliának a segítségért)
- Minta szállítás, 48 óra határidő vágóhíd!

Diagnosztika. Fejlesztés és átszervezés

- Öt új kollega más laboratóriumokból: minta előkészítés
- Új real-time és hagyományos PCR gépek, új DNS/RNS kivonó robot
- Next Generation PCR készülék



35 ciklusos 3 lépéses PCR, 2-7 perc alatt (1 óra 30 perc helyett)

H5N8 2016, Klinikai tünetek



n é b i h
Termőföldtől az asztalig

Nagyon virulens vírus

**2016. November -2017. Január, bármilyen állatfaj esetében
hullák számának megemelkedése = influenza vírus**

VADMADARAK: idegrendszeri tünetek, legtöbbször hullákat találnak

KACSA: jelentős takarmány és vízfogyasztás csökkenése,
idegrendszeri tünetek: az egész állat remeg, a fej nagy frekvenciával
remeg, fejtekergetés, gubbasztás opistotonus, ínkoordinációs
zavarok, oldalra dőlnek, és mintha ugrálnának

TYÚK: cianotikus fejfüggelékek, fulladozás.



H5N8 2016, Klinikai tünetek, Liba

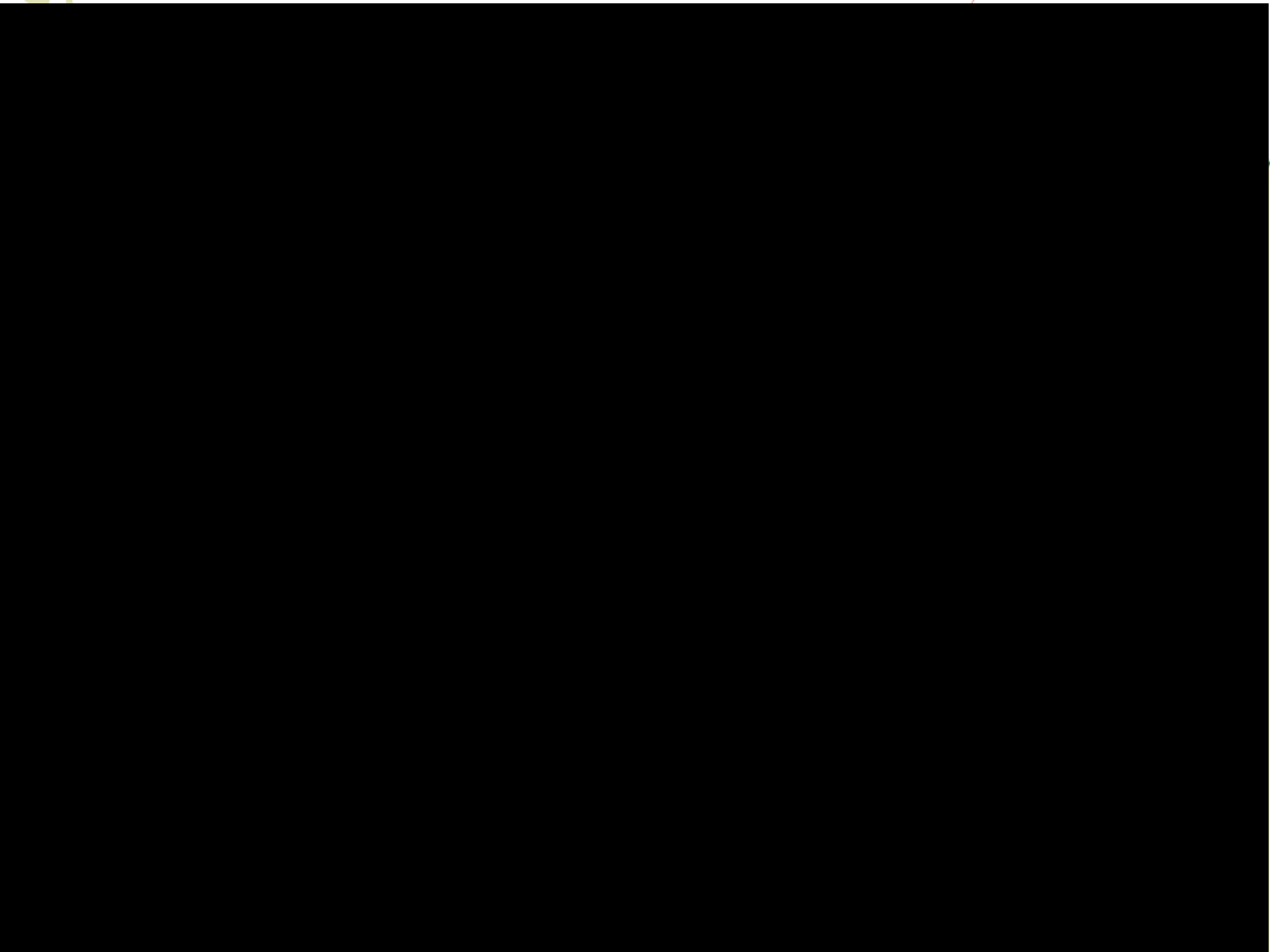


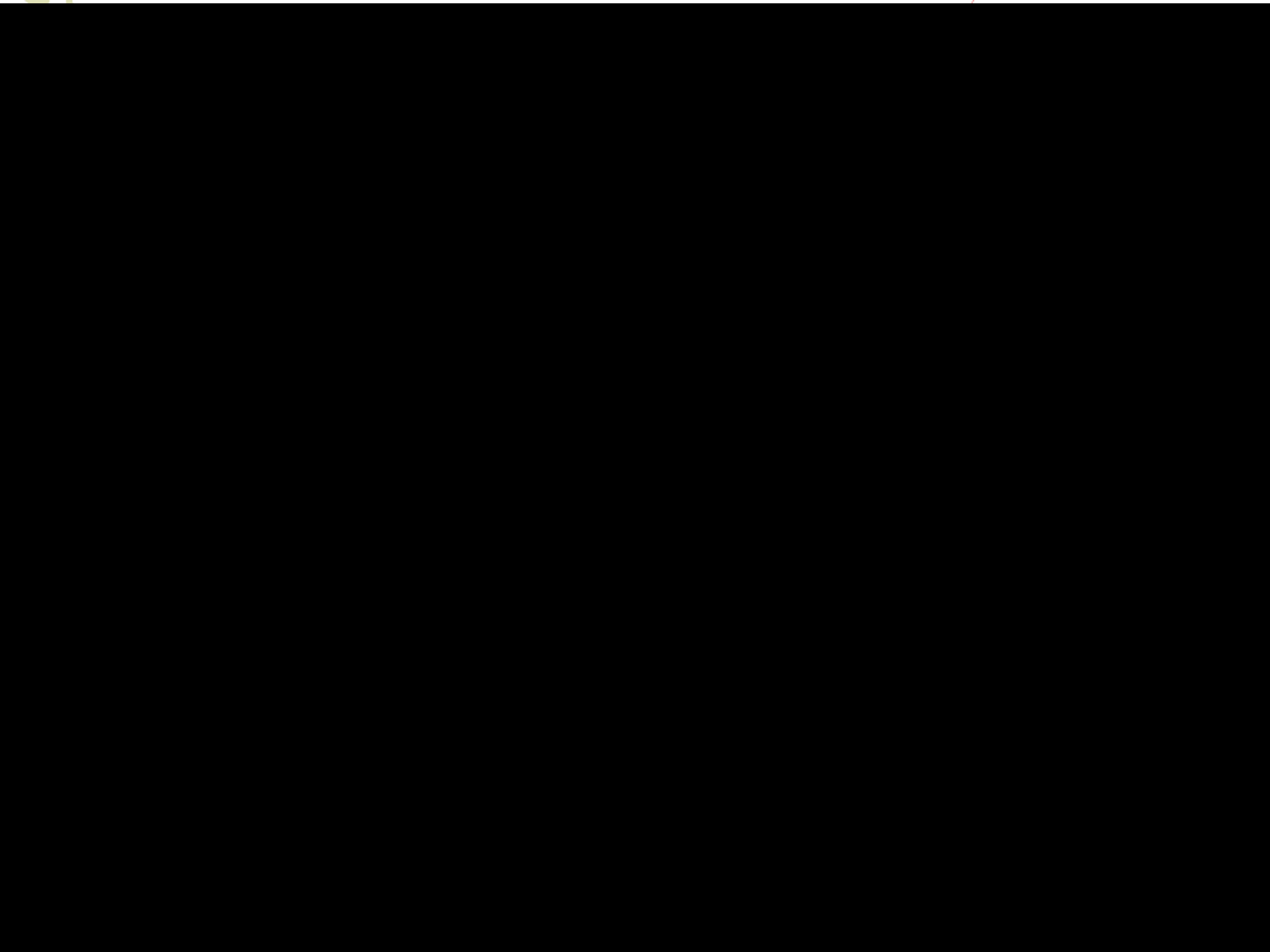
n é b i h
Termőföldtől az asztalig

LIBA: elején nem túl jellegzetesek. Enyhe takarmány fogyasztás visszaesés, bágyadtság levertség, csendesség 2-3 nap elteltével van csak idegrendszeri tünet.



Köszönet Dr. Tisóczki Renatónak (és a következő videókért is)





H5N8 2016, Klinikai tünetek, Pulyka



- „a tulajdonos elmondása szerint a napi 2000 literes vízfogyasztás 300 literre csökkent.
- a légterekbe való belépéskor szinte a teljes állomány (kb. 95 %) az almon feküdt, gubbasztott.
- a pulykákra jellemző magatartás formákat a madarak nem mutatták, gyakorlatilag indolens állapotban feküdtek.
- az állatok enterális és/vagy légzőszervi tüneteket nem mutattak, feji képletek cyanózisa a madarak kb. 30%-nál volt tapasztalható.
- idegrendszeri tünetek több állat esetében megfigyelhetők voltak, szárnybénulás, ferde fejtartás, sarokba bújás, fej falhoz támasztása, oldalra dőlés, egy irányba
- a madarak tollazata fénytelen, borzolt volt
- jellemző az érintett légtér madár állománya "hangtalansága"
- a közlekedési útvonalon lévő elfekvő pulykát, ha arrébb tette a gondozó, akkor az azt követő 1 percen belül a megmozdított madarak zöme elhullott, úgy hogy az elhullást megelőző másodpercekben -4-5 dübögő hanggal járó topogás után a szárnyak változó amplitúdójú vertikális szinkronizmussal járó szintén -4-5 szárnycsapását követően az állat azonnal elhullott”

Részletek Dr. Pokorádi András által küldött alapos klinikai leírásából

Tótkomlós, pulyka állomány



n é h i h
asztalig



Köszönet, Dr. Bakos Pálnak



H5N8 2016, Klinikai tünetek, Fácán



n é b i h
Termőföldtől az asztalig

Eleinte nem túl jellegzetes, megemelkedett elhullás, kloáka környéke bélsárral szennyezett

Pár nap után az agónia általános tünetei: bizonytalan mozgás, „megszelídült” madarak, elesnek, oldalára fordulnak, leülnek, szárnyukkal verdeső, kaparó mozgást végeznek. Az első klinikai tünetek megjelenésétől ½-1 óra alatt elpusztulnak.



Köszönet, Dr. Lőrincz József Jánosnak (és a következő képekért, és videókért)



Pulyka:

- heveny hurutos bélgyulladás
- az esetek többségében pontszerű vérzések az epicardium alatt
- esetenként a pancreas állományában elhalásos gócok

Lúd:

- az epicardium alatt pontszerű vagy összefolyó vérzések
- nagyszámú pontszerű vérzés és elhalásos góc a máj állományában
- esetenként vérzéses bélgyulladás
- elhalásos gócok vagy vérzések a pancreasban

Kacsa:

- gócos szívizom elfajulás vagy pontszerű vérzések az epicardium alatt
- elhalásos gócok vagy vérzések a pancreasban
- esetenként pontszerű vérzések a máj állományában

Tyúk:

- pontszerű vérzések a mirigyes gyomor nyálkahártyájában
- a fejfüggelékek cianózisa
- pontszerű vérzések a savóshártyák alatt és a kötőszövetben

Mindegyik fajban a lép, máj, vese, tüdő kifejezett bővérűsége.

Fácán:

- bélgyulladás, légcsőben hurutos váladék, pontszerű vérzések.
- zúzógyomorról a kutikula nehezen lefejthető, mirigyes gyomorban petechiális vérzések.
- májban pontszerű vérzések, elhalások

Kórbonctan

**Köszönet, Dr. Gyuris Éva (a rövid összefoglalóért is)
Dr. Thuma Ákosnak**

2016. Október 27. –2017. Október 22. általános adatok



- Közel 2400 egyedi iktatás az ASZIR rendszerünkbe
- Több mint **110 000** minta (majdnem négy év mintaszáma, „béke időben”)
- 93% tampon, 6% hullák (szervek), 0,45% tojás, 0,55% környezeti minta, egyéb (fertőtlenítés utáni, jármű, stb)
- Több, mint 300 H5N8 HPAIV RT-PCR kimutatás
- Egy esetben H5N5 HPAIV

2016. Október 27. –2017. Október 22. Mintaszámok, baromfi

PCR	Szerv	Tampon	Összesen	Pozitív (esetek)
Kacsa	813	29688	30501	89
Liba	879	28122	29001	77
Mulárd kacsa	353	4020	4373	48
Tyúk	535	29575	30110	23
Pulyka	365	6690	7055	7
Fácán	107	2663	2770	1
Vadmadár	365	1530	1895	75
Összesen	3417	102288	105705	320

Egyéb minta: ~5000

Teljes vírusgenom szekvenálás, járványtani nyomozás



- Minden érintett megyéből háztáji, vadmadár minta (vírus)
- Érdekes esetek (zárt tartási rendszerbe bejutott vírus, ragadozó madarak, stb.)
- Eddig 24 teljes H5N8 genom különböző fajokból és megyékből
- NÉBIH: nagy összegű keret biztosítása e célra
- Vizsgálatok, eredmények folyamatban.

H5N8 világszerte

FAO helyzetjelentés 2017. 02. 16.



http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/en/empres/h5n8/situation_update.html

Afrika, Ázsia, Europe and Közel-Kelet.

Országok: Austria, Belgium, Bosnia and Herzegovina, Bulgaria, **Cameroon**, Croatia, the Czech Republic, Denmark, **Egypt**, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Kazakhstan, **Kuwait**, India, **Iran (Islamic Republic of)**, **Israel**, Ireland, Italy, the Netherlands, **Nigeria**, **People's Republic of China**, Poland, Portugal, Romania, **Russian Federation**, Serbia, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden, Switzerland, **Tunisia**, The Former Yugoslav Republic of Macedonia, the United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, **Uganda** and Ukraine.

Európai helyzet jelentés, 2017. február 6-ai állapot, készítette az EURL



„Situation assessment following detection and spread of H5 HPAI in EU Member States since October 2016. Prepared by EURL for Avian Influenza, APHA-Weybridge, 06/02/17. Adam Brouwer, Pablo Alarcon, James Seekings, Steve Essen and Ian Brown”

Összesen 1420 H5N8 HPAIV kitörés 26 Európai országban baromfi (647), vadmadár (744) fogságban tartott madarak (29)

Összesen 15 kitörés H5N5 HPAIV 9 Európai országban baromfi (3), vadmadár (12).

Table 1. Number of H5 HPAI outbreaks by country from 19th October 2016 to 6th February 2017.

Country	H5N8			H5N5		Total
	Poultry	Wild Birds	Captive Birds	Poultry	Wild Birds	
Hungary	231	56	4			291
France	201	17	1			219
Bulgaria	60	4	1			65
Germany	48	248	9	3		305
Poland	38	39			2	79
Czech Republic	20	27				47
Netherlands	8	42	6		1	57
Romania	8	32	1			41
United Kingdom	8	18				26
Slovakia	6	39	3			48
Italy	4	3			1	8
Sweden	3	16	2			21
Republic of Serbia	3	12				15
Greece	3	4			1	8
Ukraine	3	1				4
Austria	2	21				23
Croatia	2	9				11
Denmark	1	39				40
Macedonia	1	1				2
Switzerland		87				87
Finland		12	1			13
Slovenia		10			3	13
Ireland		5				5
Montenegro					2	2
Belgium			1			1
Portugal		1				1
Spain		1				1
Grand Total	647	744	29	3	10	1433

H5N5 kitörések
országonként.

Még:
Horvátország
Magyarország

Figure 1. Number of H5 HPAI outbreaks by country from 19th October 2016 to 6th February 2017.

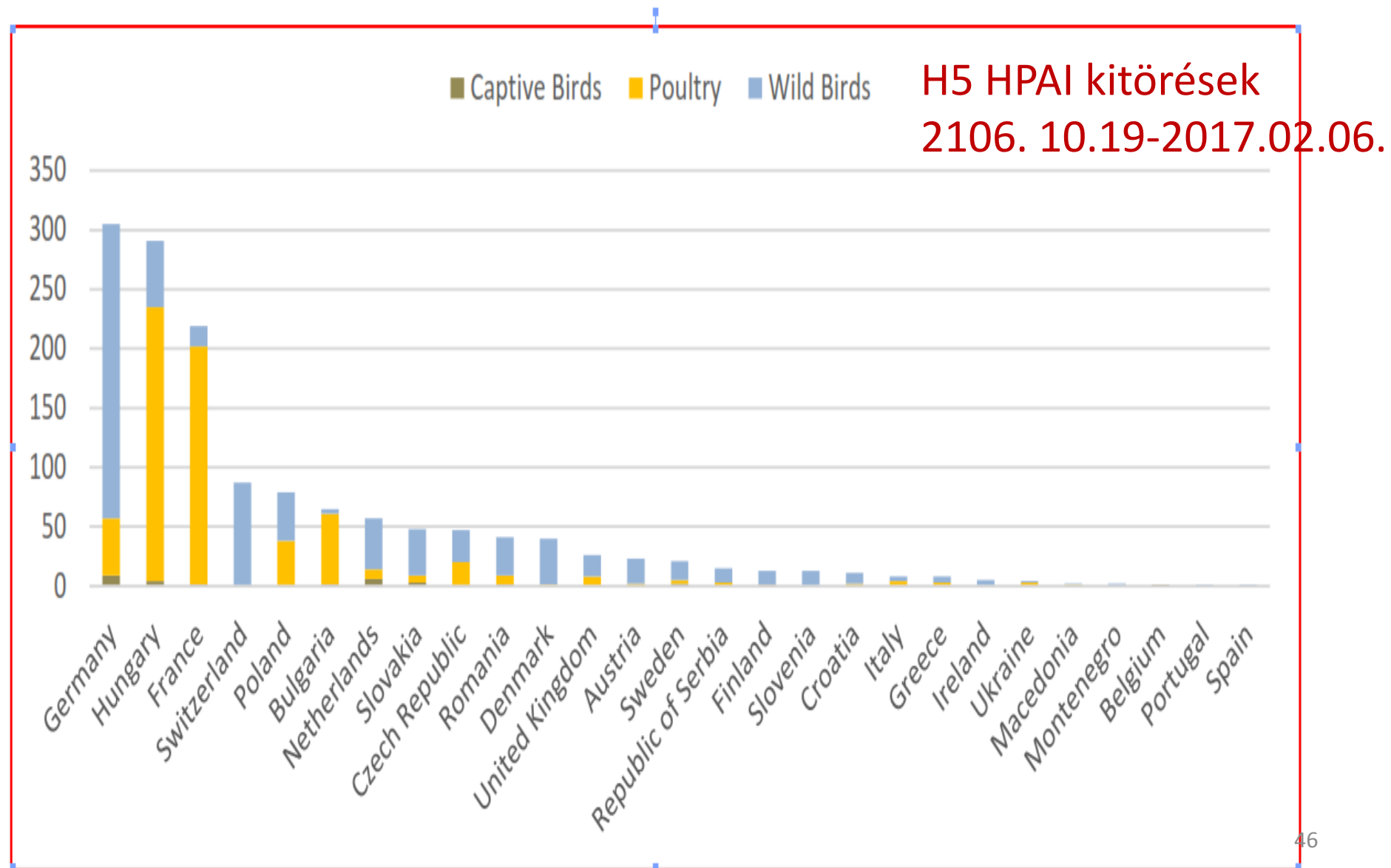


Table 2. Data on poultry farm flock size**Érintett állományok nagysága**

Country	Poultry flock size			
	<200	200 -1,000	1,000-10,000	>10,000
Austria	1		1	
Bulgaria	7	5	37	11
Croatia	1	1		
Czech Republic	15	3	1	1
Denmark	1			
France	39	22	104	36
Germany	14	2	11	21
Greece	2			1
Hungary	27	27	97	80
Italy				4
Macedonia		1		
Netherlands			2	6
Poland	14	3	6	15
Republic of Serbia	3			
Romania	7	1		
Slovakia	6			
Sweden	2			1
Ukraine	2			1
United Kingdom	2		3	3
Grand Total	143	65	262	180

VADMADARAK

- So far most cases in wild birds have been detected through passive surveillance (some in association with significant mortality events). This is in contrast to 2014/15 when a number of detections were made via active surveillance and mass mortality events associated with infection of H5N8 clade 2.3.4.4. have not been reported. The phenotypic changes are probably related to genotypic differences between the different spatial groups of H5N8 (clade 2.3.4.4.) that have occurred in Europe since 2014.

2014/2015 H5N8 járvány során legtöbb detektálás aktív monitoring során, nem volt tömeges vadmadár elhullás

2016 H5N8 járvány detektálás passzív monitoring során, tömeges elhullások

Genetikai változás.

Table 5. ‘Wild bird’ species reported infected with H5N8 HPAI in Europe since October 2016.

Species	Number of events*	%
Mute swan (<i>Cygnus olor</i>)	176	21%
Duck spp	102	12%
Tufted duck (<i>Aythya fuligula</i>)	77	9%
Unspecified	77	9%
Swan spp	59	7%
Gulls spp	49	6%
Whooper swan (<i>Cygnus cygnus</i>)	32	4%
Goose spp.	30	4%
Herring gull (<i>Larus argentatus</i>)	24	3%
Mallard (<i>Anas platyrhynchos</i>)	22	3%
Eurasian wigeon (<i>Anas penelope</i>)	19	2%
White-tailed eagle (<i>Haliaeetus albicilla</i>)	19	2%
Black-headed gull (<i>Chroicocephalus ridibundus</i>)	17	2%
Common buzzard (<i>Buteo buteo</i>)	12	1%
Great black-backed gull (<i>Larus marinus</i>)	11	1%
Great crested grebe (<i>Podiceps cristatus</i>)	11	1%
Greylag goose (<i>Anser anser</i>)	11	1%
Common pochard (<i>Aythya farina</i>)	8	1%
Heron spp.	8	1%
Great cormorant (<i>Phalacrocorax carbo</i>)	7	1%
Grey heron (<i>Ardea cinerea</i>)	7	1%
Greater White-fronted Goose (<i>Anser albifrons albifrons</i>)	7	1%
Common coot (<i>Fulica atra</i>)	5	1%

High Risk Species not detected positive to date in the current epizootic
Black-necked Grebe (<i>Podiceps nigricollis</i>)
Bewick’s Swan (<i>Cygnus columbianus</i>)
Bean Goose (<i>Anser fabalis</i>)
Pink-footed Goose (<i>Anser brachyrhynchus</i>)
Barnacle Goose (<i>Branta leucopsis</i>)
Brent Goose (<i>Branta bernicla</i>)
Red-breasted Goose (<i>Branta ruficollis</i>)
Gadwall (<i>Anas strepera</i>)
Northern Pintail (<i>Anas acuta</i>)
Garganey (<i>Anas querquedula</i>)
Northern Shoveler (<i>Anas clypeata</i>)
Marbled Teal (<i>Marmaronetta angustirostris</i>)
Smew (<i>Mergus albellus</i>)
Black Kite (<i>Milvus migrans</i>)
Red Kite (<i>Milvus milvus</i>)
Eurasian Marsh Harrier (<i>Circus aeruginosus</i>)
Rough-legged Buzzard (<i>Buteo lagopus</i>)
Purple Swamphen (<i>Porphyrio porphyrio</i>)
Eurasian Golden Plover (<i>Pluvialis apricaria</i>)
Northern Lapwing (<i>Vanellus vanellus</i>)
Ruff (<i>Philomachus pugnax</i>)
Black-tailed Godwit (<i>Limosa limosa</i>)

Bütykös hattyú, récefélék, Kontyos réce, hattyú fajok, sirály fajok, Énekes hattyú

H5N8 pozitív Vadmadarak Magyarország

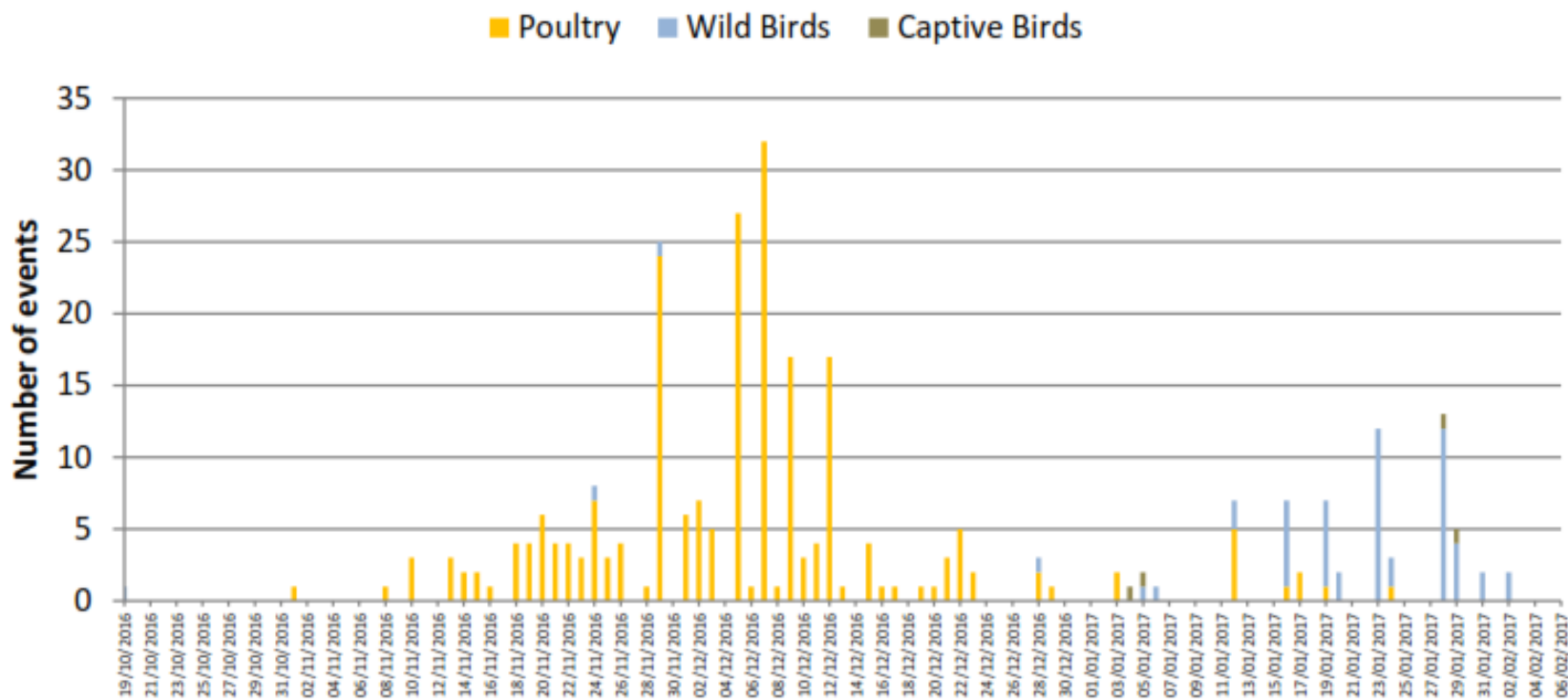


Bütykös hattyú	47
Tőkés réce	6
Nyári lúd	4
Nagy lilik	4
Kis lilik	3
Dankasirály	2
Harris ölyv	2
Kárókatona (Kormorán)	1
Kis kárókatona	1
Nagy kócsag	1
Szárcsa	1
Vándorsólyom	1
Vetési varjú	1
Vörösfarkú ölyv	1

**1 esetben
Bütykös hattyú
H5N5**

H5 HPAI Járvány Magyarország 2016.október.-2017. február 6.

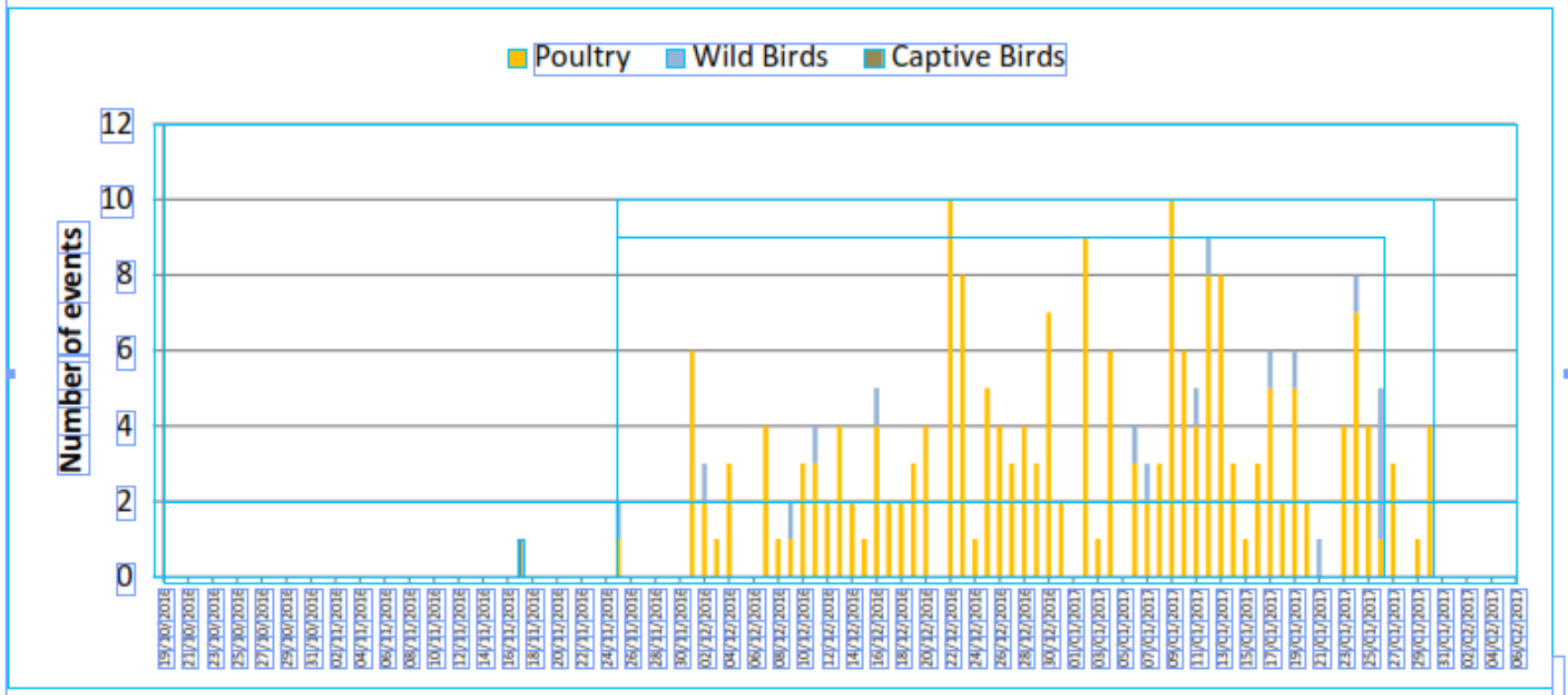
Figure 5. Epidemic curve of H5 HPAI outbreaks in Europe since October 2016
Hungary



The last recorded case in poultry in Hungary was on the 24th January 2017 in a large laying hen flock. The epidemic was at its peak in early December with up to 30 cases in poultry a day.

H5 HPAI Járvány Franciaország 2016.október.-2017. február 6.

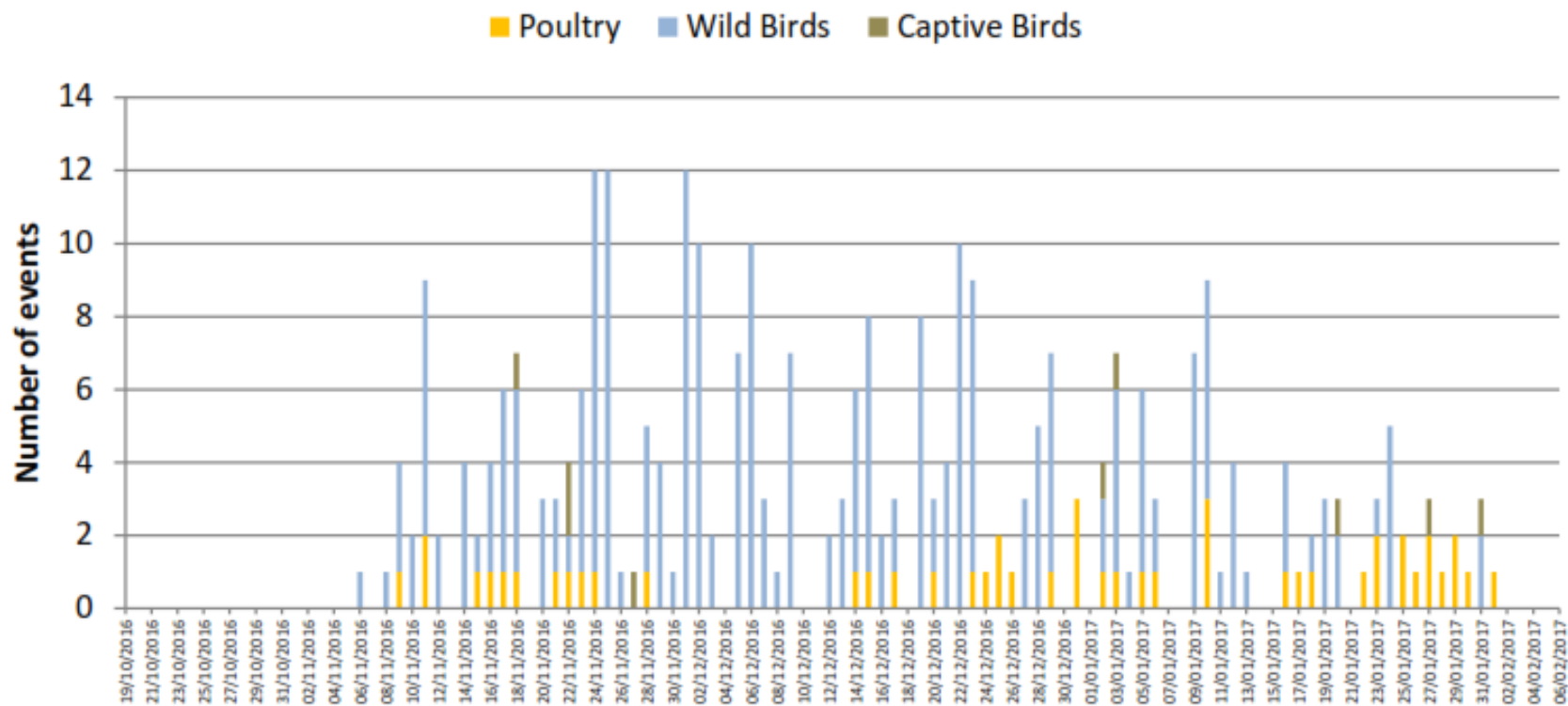
France



Detections in poultry (primarily ducks and chickens) continue to be recorded in the South-west of France with an average of 2.8 cases per day in the last 14 days.

H5 HPAI Járvány Németország 2016.október.-2017. február 6.

Germany



Germany continues to detect HPAI in both poultry and wild birds but there are indications of a reduction in the number of cases since the last situation report. H5N5 was first detected on 22nd January 2017.

Köszönet



NÉBIH ÁDI:

Laboratóriumunk munkatársainak

- Juhász Ágnes
- Lugosiné Takács Anita
- Ottinger Ernőné
- dr. Rónai Zsuzsanna
- dr. Ursu Krisztina

és kiváló segítőinknek,

- Ciczer Sándorné
- Daróczi Gyöngyi
- Farkas Rózsa
- Gáspárné Stoll Annamária
- Óri Imréné Magdolna

Igazgató: Dr. Abonyi Tamás

Horváth Dóri, Miskó Timea, Veressné Ildikó, Surján Annamária és még egyszer Turák Juliának **(adminisztráció, szállítások, rendelések, stb.)**

Michna Judit **(vírusizolálás)**

Kommunikáció, adatok, járványtani kérdések, stb

Dr. Lakatos Tibor

Dr. Hercsel György

Dr. Drozdik Ferenc

Dr. Pertich Attila Sándor



n é b i h
Termőföldtől az asztalig

Köszönöm a figyelmüket!

