

УДК 616-022.39+ 591.2+598.434(477.75)

## ВЫСОКОПАТОГЕННЫЙ ПТИЧИЙ ГРИПП И ЕГО ЭПИЗООТИЯ СРЕДИ БОЛЬШИХ БАКЛАНОВ В УКРАИНЕ В ВЕСЕННИЙ ПЕРИОД 2006 ГОДА

**В.И. Чирний, Ю.А. Ильичев, А.Б. Хайтович**

ГУ "Украинская противочумная станция" МЗ Украины, г. Симферополь



**Highly pathogenic bird influenza and its epizootic among the Cormorants in Ukraine during the spring period, 2006.** - V.I. Chirniy, Yu.A. Ilichev, A.B. Khaytovich. Ukrainian AntiPlague Station, Simferopol.

*Epizootic of highly pathogenic bird influenza, caused by circulation of a virus of influenza A subtype H5N1 among fowl and wild birds had struck 60 countries within three continents of the eastern hemisphere in 2005-2006. It appeared in the Ukraine not only amidst fowl in the Crimea AR at the end of 2005, but also among wild birds - the Cormorants (*Phalacrocorax carbo*) during spring period of 2006 on one of the islands in the Sivash Bay. Strains of a virus of influenza A subtype H5N1, isolated from the internal organs of these birds were highly pathogenic for Gallinaceae birds and mammalia, but had not mutations to receptors typical for man as well as mutations that cause a steadiness of virus to the main anti- influenza medicaments. Epizootic in this region was caused by a virus of influenza A/H5N1 that has been highly homologous to a virus of influenza A/H5N1, isolated from fowl during epizootic in August-November 2005 in the different regions of Russia Federation and in May-August 2005 at Tsinkhay Lake of the same name province in the People's Republic of China. Epizootic of highly pathogenic bird influenza (HPBI) among the Cormorants in Ukraine during the spring 2006, on the island in the Sivash Bay was one of the first confirmations of transmission of influenza virus H5N1 to the local populations of the breeding species of wild birds within the year following its extraordinary wide, panzootic spreading. Comparing temporal and spatial characteristics of the epizootic focuses of HPBI with the same characteristics from the wintering areas and taking into account numbers of the Cormorant within these*



*areas, it is supposed that just birds from the Azov-Sivash population wintering mainly in Krasnodar Region of the Russian Federation have provided an influenza virus transfer from the known epizootic areas within wintering range to their nesting-places.*

Общеизвестна роль диких птиц как носителей и резервуаров возбудителей болезней различной этиологии, патогенных для млекопитающих, в том числе и для человека. Значительное количество видов членистоногих, прежде всего, кровососущих двукрылых насекомых и иксодоидных клещей, паразитирующих на птицах, эффективно обеспечивают трансмиссию патогенов как среди птиц, так и среди млекопитающих. В частности, вирусов, передаваемых этими членистоногими, то есть относящихся к экологической группе арбовирусов, хозяевами которых считаются птицы, насчитывается более 100 (Львов и др.1989). Некоторые из них, например, вызывающие клещевой энцефалит или лихорадку Западного Нила, занимают значимое место в инфекционной патологии человека, а поэтому и их основной хозяин - птица, чаще поминалась в связи со случаями (многочисленными, к слову, сказать, в последнее десятилетие) заболевания людей.

Другие же возбудители инфекций вирусной этиологии, признанными хозяевами которых считаются птицы, до недавнего времени не проявляли себя манифестно в среде животных, хотя периодически и наносили ощутимый экономический ущерб промышленному птицеводству в различных регионах Земли. Редкие заболевания людей на фоне локальных эпизоотий среди сельскохозяйственной птицы, не сопровождались тяжелыми формами течения и существенным расстройством здоровья.

Речь идет о вирусе гриппа типа А, одном из представителей семейства ортомиксовирусов, более известном нам как "человеческий" или "сезонный" грипп, который вместе с острыми респираторными инфекциями, несмотря на определенные успехи здравоохранения, по-прежнему остается одной из самых актуальных медицинских и социально-экономических проблем. Циркулировавшие в человеческой популяции вирусы гриппа А, относящиеся к субтипам H1N1, H2N2 и H3N2 вызывали в прошлом веке даже пандемии, получившие из-за своей тяжести и высокого уровня летальности имена собственные - "испанка" (1918-1919 гг.), "азиатский" (1957-1958) и "гонконгский" (1968-1969 гг.), обусловившие более 40 миллионов смертей в мире.

Вирусы гриппа типа А, одни из немногих вирусов, у которых наблюдается непрерывное изменение антигенной композиции и характеризующихся высоким антигенным разнообразием поверхностных белков. Сейчас известно 16 субтипов гемагглютинина и 9 субтипов нейраминидазы. Каждый субтип вируса гриппа А имеет 1 субтип (H), а также 1 субтип (N) и, таким образом количество возможных вирусных субтипов гриппа А составляет 144 (16 X 9 = 144). Столь высокое разнообразие субтипов гриппа А обеспечено прежде всего простоте его сегментированного генома, что способствует беспрепятственному обмену генетическим материалом между вирусами гриппа А различных субтипов т.е. реассортации, при условии одновременного попадания их в одну клетку-хозяина.

До недавнего времени считалось, что вирусы гриппа, которые поражают птиц, не патогенны для людей и, в случае заражения, вызывают у них быстро проходящие симптомы конъюнктивита, легкое недомогание и иногда слабовыраженный респираторный синдром. События 1997 г., когда вирус гриппа А субтипа H5N1, выявленный к тому времени только у птиц, вызвал заболевание с чрезвычайно тяжелой клинической картиной среди людей в Гонконге, когда из 18 заболевших людей 6 умерли,

опровергли устоявшиеся представления. Годом же раньше, в Китае (провинция Гуандонг), была зарегистрирована эпизоотия среди гусей на небольшой ферме, вызванная циркуляцией высокопатогенного вируса гриппа А субтипа H5N1 (ВППГ). Этот случай принято считать одной из первых отправных точек начала нынешней панзоотии. Настоящий же взрыв широкого распространения инфекции высокопатогенного птичьего гриппа (ВППГ) среди животных в Восточном полушарии пришелся на 2005-2006 гг., когда в эпизоотии среди сельскохозяйственной птицы массово включились дикие перелетные птицы, обеспечившие разнос вируса на значительные расстояния по различным трансконтинентальным миграционным путям во время своих сезонных миграций. Начало вспышки эпизоотической активности связывается с территорией центральной Китайской провинции Цинхай, когда, в конце апреля 2005 года, на берегу и островах одноименного заповедного озера, была выявлена массовая гибель диких околоводных птиц - горных гусей, черноголовых хохотунов, буроголовых чаек и больших бакланов (Chen et al., 2005.). Здесь в течение двух месяцев было насчитано 6345 павших птиц, от которых были выделены высоковирулентные штаммы вируса гриппа А субтипа H5N1. Это был первый случай столь массовой гибели диких птиц за весь период изучения циркуляции вирусов гриппа среди этих животных в природе.

Украина стала одной из первых стран Европы, где с октября 2005 года по февраль 2008 года на территории Автономной Республики Крым, в 25 населенных пунктах из 9 районов, погибло, а также было изъято и уничтожено более 236 тысяч голов сельскохозяйственной птицы, в том числе около 70 тысяч с частных подворий. В первых же образцах проб от сельскохозяйственных птиц из Советского и Нижнегорского районов, в начале декабря 2005 г., нами была выявлена рибонуклеиновая кислота вируса ВППГ А H5N1 (Онищенко Г.Г., и др., 2006). Дальнейшие исследования этого материала, показали, что штаммы вируса гриппа А H5N1, вызвавшие эпизоотию среди сельскохозяйственной птицы в Крыму, имеют очень высокий уровень сходства с таковыми, выделенными от птиц погибших как на озере Цинхай в Китае, так и в Новосибирской области России в июле 2005 года (Шипулин Г.А., и др., 2006).

Прямых доказательств, подтверждающих случаи падежа среди диких перелетных птиц в Крымском Присивашье, где выявлено наибольшее число эпизоотических пунктов, не было. Однако, наличие больших скоплений диких водоплавающих птиц регулярно зимующих в акватории залива Сиваш, позволило предполагать, что среди них были и больные птицы, прилетевшие с территорий, эпизоотических по ВППГ.

Эпизоотии ВППГ среди диких и сельскохозяйственных птиц, вызванные вирусом гриппа А субтипа H5N1, в течение 2005-2006 гг. были зарегистрированы в 60 странах Азии, Европы и Африки. Это позволяло предполагать возможность его возвратного заноса дикими птицами из мест зимовок на гнездовые территории или на места остановок птиц во время пролета в весенний сезон 2006 года. Эпизоотия среди больших бакланов (*Phalacrocorax carbo*) весной 2006 года, выявленная нами на одном из участков юга Украины, стала тому подтверждением.

### **Материал и методика**

В апреле 2006 г. в средствах массовой информации появились сведения о массовой гибели бакланов на косе Арабатская стрелка в окрестностях села Стрелковое, Генического района Херсонской области. Выезд на место, 28 апреля 2006 года, подтвердил, что на



одном из островов урочища Маслины в заливе Сиваш, находящемся в 4,5-5 км северо-западнее села Стрелковое, действительно были обнаружены павшие большие бакланы. На песчано-ракушечниковом острове, площадь которого составляет около гектара, расположенном в 500-600 метрах от берега, находилась колония большого баклана и практически все 700 его гнезд были обитаемы. В гнездах находились птенцы различного возраста, а также яйца. Здесь же на острове, в 10-15 метрах от колонии, было учтено 2 гнезда хохотуны с насиживающими кладки птицами. Собственно павших птиц на острове было обнаружено 5 особей, однако, на его разных участках обнаружены 3 птицы, сидящие поодаль от колонии и никак не реагировавшие на приближение к ним. Слезящиеся закрытые глаза, наклоненные головы, выделяющаяся из клювов слизь и загрязненная жидкими фекалиями околочлоакальная область тела, явно свидетельствовали о наличии у этих особей какого-то заболевания. Больные птицы были эвтаназирваны, а затем помещены в пластиковые пакеты, также как и две особи павших птиц. Кроме того, с гнезд больших бакланов, в пластиковые пробирки было собрано 15 образцов проб фекалий. Весь собранный материал был в тот же день доставлен для дальнейшего исследования в бактериологическую лабораторию Крымской (ныне Украинской) противочумной станции Министерства Здравоохранения Украины - одной из базовых лабораторий по диагностике птичьего гриппа в Украине.

Исследование доставленного материала (внутренние органы - мозг, легкие и печень птиц, фекалии) проведено молекулярно-генетическим методом обратной транскрипции и полимеразно-цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией при помощи амплификатора "Rotor-Gene" в реальном времени, с применением тест-системы "АмплиСенс Influenza virus H5". С помощью этой тест-системы определяется РНК вируса гриппа А и идентификация субтипа H5N1.

## **Результаты и обсуждение**

В ходе исследования, проведенного в течение 4 - 10 мая 2006 года, была выделена РНК вируса гриппа А субтипа H5N1 из внутренних органов всех доставленных 5 особей больших бакланов. Из 15 проб фекалий больших бакланов в одной была выделена РНК вируса гриппа А (субтип H5) и РНК вируса гриппа А (субтип не определен) в другой пробе. Полученные положительные результаты позволяют утвердительно говорить о наличии эпизоотии птичьего гриппа в исследованной островной популяции большого баклана, текущей в указанный период времени.

Дальнейшие исследования образцов проб внутренних органов были проведены на базе Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва, Российская Федерация), подтвердив наличие во всех исследованных образцах РНК ВППГ А/H5N1 (Яцышина С.Б. и др., 2007). Из 2 образцов была получена ДНК вируса гриппа А и проведено секвенирование сегментов генома вируса - 4 (1339 п.н.), 6 (1026 п.н.) и 7 (827 п.н.), кодирующих соответственно гемагглютинин, нейраминидазу и протеины М1 и М2, определяющих патогенность вируса, а также его чувствительность к противовирусным препаратам.

Результаты исследования позволили сделать вывод, что обнаруженный в пробах образцов вирус гриппа А/H5N1 содержал последовательность сайта протеолиза гемагглютинина, кодирующую 6 основных аминокислот (PQGERRRKKR/GL), которая ассоциирована с высоким индексом патогенности для птиц отряда курообразные и



млекопитающих, и делецию в гене нейраминидазы (20 аминокислот в позиции 49-68), что является маркером адаптации вируса к организму птиц, а также видоспецифичный для птиц участок связывания гемагглютинина с сиаловыми рецепторами.

Мутаций адаптации вируса к характерным для человека рецепторам ни в одной из исследованных проб образцов не было.

Мутации, вызывающие устойчивость вируса гриппа к ремантадину, амантадину и озельтамивиру (тамифлю) ни в одном из образцов также не обнаружены.

Полученные изоляты показали высокую гомологию между собой по наиболее подверженному мутационному процессу гену гемагглютинина 99,5%. Гомология секвенированного ранее изолята от домашних птиц из АР Крым и данных изолятов по гену гемагглютинина составила 98.9-99.2%.

Исследование показало, что вирус относится к высокопатогенным вариантам, возникшим в Китае в результате явления реассортации циркулировавших в резервуарах диких и домашних птиц вирусов А/Н5N1, относящихся к генотипам Z и V.

Показано, что эпизоотию гриппа в данном регионе вызвал вирус гриппа А/Н5N1, имеющий высокую гомологию к вирусу гриппа А/Н5N1, выделенному от сельскохозяйственных птиц при эпизоотии в августе-ноябре 2005 года в Сибирском и Уральском федеральных округах, в Тульской и Астраханской областях Российской Федерации, в Автономной Республике Крым Украины в декабре 2005 года, в Республике Азербайджан в феврале 2006 года, а также с вирусом, выделенным от диких водоплавающих птиц, павших при эпизоотии в мае-августе 2005 года на озере Цинхай в одноименной провинции Народной Республики Китай, которое является местом скопления мигрирующих птиц из Южной Азии, Новой Зеландии, Австралии, Сибири.

После закрытия эпизоотического очага ВППГ на территории АР Крым в феврале 2006 года, сведений о новых его эпизоотических вспышках на территориях Украины прилегающих к Крымскому полуострову не поступало. Это позволяет утвердительно говорить о том, что выявленный в апреле 2006 года эпизоотический очаг ВППГ среди больших бакланов на острове в заливе Сиваш следует считать вновь возникшим в связи с возвратом этих птиц с мест зимовки к местам гнездования, а появление вируса гриппа А/Н5N1 - возвратным его заносом с эпизоотических территорий.

Анализируя данные по кольцеванию большого баклана и возвратах его колец в Азово-Сивашском регионе за период 1985-1996 гг., представленные в работе Н.Б.Мацеевской, А.И.Кошелева, и Е.А.Дядичевой (1998), можно видеть, что в первый год зимовки после кольцевания, в период октябрь-начало марта, 47 больших бакланов были встречены в 9 странах Европы, Азии и Африки (без учета Украины). При этом 25 из них (53,2%) - встречены преимущественно в Краснодарском крае Российской Федерации, 12 (25,5%) - в Израиле, и, единичные находки в Турции (3), Египте (2). По одному возврату было получено из Грузии, Болгарии, Греции, Ирака и Нигера.

Полагая, что даже столь небольшая выборка, однако, за достаточно продолжительный период времени, может отражать как реальное определение основных мест зимовок большого баклана, гнездящегося в Азово-Сивашском регионе Украины, так и количественную характеристику распределения этой популяции в местах зимовок, следует предположить и то, что и занос вируса гриппа А/Н5N1 наиболее вероятен с территории зимовки большей части популяции этого вида. Следует сказать, что в зимний период 2006 года и до 20 апреля 2006 года (даты первого сообщения о случаях гибели больших бакланов на Арабатской стрелке) на территории всех поименованных выше



стран были зарегистрированы эпизоотические очаги ВППГ. Из этих стран только в Российской Федерации и в Турции первые эпизоотические проявления среди птиц были уже отмечены как во второй половине 2005 года, так и в первой половине 2006 года, тогда как другие указанные страны впервые сообщили об эпизоотиях ВППГ на своих территориях в течение января-марта 2006 г.

Так в начале 2006 года (Андрясов и др., 2006), в Южном Федеральном Округе Российской Федерации зарегистрирована вспышка ВПГ среди домашних и диких птиц. ВППГ был выявлен в 11 субъектах округа: Краснодарском, Ставропольском краях, Астраханской, Волгоградской областях, Республиках Калмыкии, Кабардино-Балкарии, Карачаево-Черкесии. Дагестане, Адыгее, Чечне, Северной Осетии, где по сообщению Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) заболевание птиц гриппом зарегистрировано в 85 населенных пунктах. За период эпизоотии гриппа в 2006 году в неблагополучных пунктах пало и вынуждено убито более одного миллиона трехсот тысяч голов птицы различных видов. При этом был получен и изучен ряд изолятов вируса гриппа А/Н5N1 в т.ч. и выделенные от куриц в феврале 2006 года в Темрюкском и Тбилисском районах Краснодарского края, а также в Кочубеевском районе, Ставропольского края в марте 2006 года. Ближайшими аналогами российских изолятов являются вирусы гриппа птиц, выделенные в мае и июне 2005 г. во время вспышки у диких околородных птиц (гуси, чайки) (озеро Цинхай в одноименной провинции КНР). Консенсусные последовательности изолятов Цинхай и российских изолятов совпадают полностью. Предположительно, источником заболевания птиц в Южном Федеральном округе были дикие перелетные водоплавающие отряда Пластинчатоклювых (Anseriformes), мигрировавшие на зимовку в районы Каспийского и Черноморского побережья из Западной Сибири и Урала. Результаты филогенетического анализа выявили практически 100% идентичность между изолятами вируса гриппа птиц, выделенных на территории Западной Сибири и юга Российской Федерации.

Сопоставляя временные и пространственные характеристики эпизоотических очагов ВППГ с таковыми основных мест зимовок и численности большого баклана на этих зимовках, можно с большой долей уверенности предполагать, что именно особи Азово-Сивашской популяции зимующие преимущественно в Краснодарском крае Российской Федерации и обеспечили занос вируса гриппа в места своего гнездования с выявленных там эпизоотических территорий. Вместе с тем, предположение это было бы более полно обоснованным, при проведении исследований по определению степени гомологичности изолятов вируса, выделенных на этих двух территориях, где большой баклан имеет различный характер пребывания.

Эпизоотия ВППГ среди больших бакланов весной 2006 года на острове в заливе Сиваш явилась одним из первых подтверждений перехода вируса гриппа А/Н5N1 в среду местных популяций гнездящихся видов диких птиц в год последующий за годом его чрезвычайно широкого, панзоотического, распространения, а также указывает на возможность заражения птиц на других территориях, заноса возбудителя на свои гнездовые территории и образования местных очагов птичьего гриппа (сезонных, временных или постоянных), что требует специального изучения.

Проведение же эпизоотологического обследования на ВППГ больших бакланов в весенний период на этом же острове весной 2007 года не удалось, так как колония этих птиц была здесь варварски уничтожена летом 2006 года. Притом, что прошлогодние гнезда здесь сохранились практически все, гнездящихся особей больших бакланов



вообще не выявлено, тогда как на крупной колонии большого баклана, расположенной на косе Полигонная, недалеко от обследованной, в это же время (17-18 апреля 2007 года), появились первые птенцы и практически все гнезда были обитаемы.

## **Выводы**

1. Эпизоотия в популяции большого баклана в заливе Сиваш, на одном из островов, прилегающем к косе Арабатская стрелка (Генический район, Херсонская область, Украина) была вызвана вирусом гриппа А субтипа H5N1, штаммы которого, изолированные из внутренних органов птиц, по результатам исследований отнесены к высокопатогенным для птиц отряда курообразные и млекопитающих, однако, мутаций адаптации вируса к характерны для человека рецепторам, а также мутаций, вызывающих устойчивость вируса в основным противогриппозным лекарственным препаратам не было обнаружено.

2. Выделение РНК вируса гриппа А в двух образцах проб фекалий большого баклана, где определить полный субтип не удалось, свидетельствуют о более широком спектре штаммов вируса гриппа, циркулирующих среди этого вида птиц.

3. Эпизоотия ВППГ среди больших бакланов проявилась как результат возвратного заноса вируса этим видом птиц из мест зимовки, где протекали подтвержденные эпизоотии ВППГ среди сельскохозяйственных и диких птиц.

4. Возвратный занос вируса гриппа А субтипа H5N1 большим бакланом был наиболее вероятен с территории Краснодарского края Российской Федерации, где в зимне-весенний период 2006 года период отмечены эпизоотические очаги среди, прежде всего, сельскохозяйственной птицы, при том, что на этой территории проходит зимовка значительной части популяции этого вида птиц, гнездящейся в Азово-Сивашском регионе Украины.

## **Литература**

- Андриясов А.В., Манин Т.Б., Пчелкина И.П., Щербакова Л.О., Колосов С.Н., Дрыгин В.В. Идентификация и генетический анализ изолятов вируса гриппа птиц, выделенных на территории Южного Федерального Округа в 2006 году // Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. №87. Міжнародна науково-практична конференція: "Високо патогенний грип птиці: актуальні аспекти епізоотології, епідеміології, діагностики та профілактики" (27-31 серпня 2006 р., сел.. Новий Світ, АР Крим ). - Харків. - 2006. - С. 24-31.
- Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. - М.: Медицина, 1989. - 336 с.
- Мациевская Н.Б., Кошелев А.И., Дядичева Е.А. Информация регионального банка о возвратах окольцованных птиц. Сообщение 1. Веслоногие, голенастые, чайковые //Бранта: Сборник науч. трудов Азово-Черноморской орнитологической станции. - 1998. - Вып. №1. - С. 130-142.
- Онищенко Г.Г., Бережнов С П., Шестопалов А.М., Золотых СИ., Дурыманов А.Г., Алексеев А.Ю., Евсеенко В.А., Терновой В.А., Кирьякова Л.С., Ильичев Ю.А., Шварсалон Н.К., Чирний В.И., Абибулаев Д.Э., Хайтович А.Б., Кровякова М.Т., Нетесов С.В., Дроздов И.Г. Молекулярно-биологический анализ изолятов вируса



- гриппа, вызвавших эпизоотии на юге Западной Сибири и в Автономной Республике Крым//Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. №87. Міжнародна науково-практична конференція: "Високо патогенний грип птиці: актуальні аспекти епізоотології, епідеміології, діагностики та профілактики" (27-31 серпня 2006 р., сел.. Новий Світ, АР Крим). - Харків. - 2006. - С. 143-150.
- Шипулин Г.А., Яцышина С.Б., Астахова Т.С., Браславская С.И., Шварсалон Н.К., Кондратьева Т.Ю., Хайтович А.Б., Малеев В.В., Покровский В.И. Молекулярно-эпидемиологический анализ изолятов вируса гриппа птиц эпизоотия 2005-2006 годах на территории России и стран СНГ// Ветеринарна медицина. Міжвідомчий тематичний науковий збірник. №87. Міжнародна науково-практична конференція: "Високо патогенний грип птиці: актуальні аспекти епізоотології, епідеміології, діагностики та профілактики" (27-31 серпня 2006 р., сел.. Новий Світ, АР Крим). - Харків. - 2006. - С. 301-307.
- Яцышина С.Б., Астахова Т.С., Браславская С.И., Кондратьева Т.Ю., Шварсалон Н.К., Виткова О.Н., Вангели Е., Калмыков М.В., Хайтович А.Б., Шипулин Г.А. Молекулярно-эпидемиологический анализ вируса гриппа птиц, циркулировавшего в 2005-2006 гг. в России и странах СНГ // Международные медико-санитарные правила и реализация глобальной стратегии борьбы с инфекционными болезнями в государствах- участниках СНГ. Материалы VIII Межгосударственной научно-практической конференции государств-участников СНГ (25-26 сентября 2007 г., Саратов). - Саратов, 2007. - С. 324-325.
- Chen H., Smith G. J. D., Zhang S. Y., Qin K., Wang J., Li K. S., Webster R. G., Peiris J. S. M., Guan Y. H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl // Nature. - V.436/14. - July 2005. - С.191.