



РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ

Министерство на земеделието и храните

Център за оценка на риска
по хранителната верига



СТАНОВИЩЕ ОТНОСНО ОЦЕНКА НА РИСКА НА ПТИЦЕВЪДНИ ОБЕКТИ С ПОЛОЖИТЕЛНИ РЕЗУЛТАТИ ЗА АНТИТЕЛА ПО ОТНОШЕНИЕ РАЗПРОСТРАНЕНИЕТО НА ИНФЛУЕНЦА А ПО ПТИЦИТЕ

1. Общи данни

1.1. Проучвания върху майчиния имунитет.

1.2. Продължителност на имунитета след ваксинация/ инфекция с НРАІ при

птици.

2. Преживяване на НРАІ в околната среда.

3. Количеството на отделяне на вирус – домашни птици.

4. Продължителност на отделяне на вируса на Инфлуенца А.

5. Домашни патици. Резервоар и „mixing vessel“ на вируса на високопатогенната инфлуенца (НРАІ).

6. Данни за Европа.

7. Данни за България.

8. Изводи и препоръки

9. Използвана литература

1. Общи данни.

Инфлуенцата по птиците (AI) се причинява от Инфлуенца А вируси, които са често срещани при дивите и домашни птици. Когато домашните птици са заразени, заболяването може да протече мълниеносно, с леки до тежки клинични признаци или безсимптомно. Пилетата, пъдпъдците и пуйките са особено податливи, докато **патиците по-често не показват клинична експресия, но се явяват резервоар за вируса.** Заразените диви птици могат и да развият клинично проявено заболяване, а може и да са само механични преносители, както и инцидентни или перманентни излъчители. Разбирането на моделите на излъчителството на вируса на птичия грип при домашните птици е важно за разбирането на взаимодействията гостоприемник-патоген и разработването на ефективни стратегии за контрол. **Информация за нивата на отделяне на вируса и продължителността на отделяне при различни AIV щамове е налична само при експериментално заразени видове домашни птици.**

При патиците се наблюдават по-често серологично положителни птици, отколкото при кокошки, защото НРАІ циркулира по-успешно сред тяхната популация. При кокошките смъртността е много висока, докато протичането на заболяването при патици може да бъде от безсимптомно, до леки клинични признаци или да завърши фатално. Някои видове птици може да са само вирусозлъчители (до 17 дни след заразяването) както се наблюдава при вирусите от азиатската линия от 2003-04 г. подтип H5N1, (*Gilbert et al., 2008*). Друго възможно обяснение за разликата в серопреваленса между видовете домашни птици е, че стадата от патици са по-често изложени на НРАІ, отколкото кокошките.

1.1. Проучвания върху майчиния имунитет.

Произведените от майката антитела могат да защитят младите пилета от различни вирусни заболявания (*Otaki et al., 1992*). Титрите на майчините антитела при пилетата са най-високи веднага след излюпването и намаляват до нула след 3 или 4 седмици. *Maas et al.* правят

☐ Amber ☐ Green ☒ White

1618, гр. София, бул. "Цар Борис III" № 136; тел. +359 2 427 30 56
<https://corhv.government.bg>, corhv@mzh.government.bg

проучвания при пилета, чиито майки са ваксинирани и установяват, че за да бъдат защитени срещу клинично заболяване и да се предотврати висока екскреция на вируса при заразяване, тези пилета трябва да имат титри на хемаглутиниращи (HI) антитела по-високи от 2^4 . Това означава, че ваксинираните кокошки трябва да имат титри на HI-антитела по-високи от 2^7 , тъй като е установено, че титрите на антитела в 14-дневните пилета са с приблизително 2^3 по-ниски от титрите при техните майки.

Проучванията на *Di Trani et al.* показват, че среден HI титър на антитела от 2^8 е наличен само за няколко седмици след една ваксинация и за 8 до 18 седмици след две ваксинации, в зависимост от видът на използваната ваксина. *Tian et al.* доказва, че средният титър на серумните антитела от 2^8 е наличен между 3 -13 седмица след еднократна ваксинация. *De Vriese et al.*, докладват ограничената стойност на майчиния имунитет за защита срещу HPAI H5N1 за пилета бройлери. Заразяването с H5N1 на 11-дневна възраст е довело до 83% смъртност на пилетата, излюпени от ваксинирани кокошки.

Maas et al. докладват, че е необходим титър на антитела от най-малко 2^5 , за да се получи значителна клинична защита при пилета с майчин имунитет, това предполага, че в допълнение към наличието на серумни антитела, други имунни механизми допринасят за защита срещу инфекция с вируса на птичия грип при имунизирани пилета. Това заключение е подкрепено от проучването на *Van der Goot et al.*, които съобщават за добра защита срещу предаване на вируса между пилета след заразяване с висока доза HPAI H7N7 в първата седмица след ваксинацията, когато антителата все още не могат да бъдат открити.

Инактивираните ваксини стимулират главно системен отговор на антитела, докато живите ваксини предизвикват по-широк имунен отговор чрез стимулиране на имунната система по начин, подобен на естествената инфекция. Добре известно е, че ефикасността на живите ваксини може да бъде отрицателно повлияна от наличието на майчин имунитет (*Naqi et al., 1983*). Ефективна е ваксинацията само под определен титър на майчини антитела. Малко се знае за ефикасността на инактивираните ваксини при пилета с майчин имунитет. *Maas et al.*, са проучили ефикасността им в потомството на кокошки, ваксинирани срещу AI. В тяхното проучване индукцията на антитела след AI ваксинация на пилета, произхождащи от ваксинирани кокошки е значително инхибирана дори от ниски титри на майчините антитела. При някои от тези пилета, индукцията на антитела е била нарушена дори при липса на измерими титри на антитела. *De Vriese et al.* също съобщават за слаба индукция на титри на антитела след ваксиниране на пилета бройлери с антитела, получени от майката. *Kim et al.* доказват, че пасивният трансфер на H5N1 антитела към пилета потиска ефективността на последващата активна ваксинация. Има хипотеза, че лошите резултати от ваксинационната кампания в Египет могат да бъдат частично обяснени с наличието на имунитет при майката (*Kim et al., 2010*).

Maas et al. заключават, че има слаба индукция на антитела след ваксинация с инактивиран грипен вирус при млади пилета с антитела, получени от майката. През периода, в който младите пилета имат ниски титри на антитела (под 2^5 до 2^6), трябва да се прилагат строги мерки за биосигурност, за да се предотврати въвеждането на вируса на птичия грип. Алтернативно, използването на живи векторни ваксини може да се обмисли при тези пилета, тъй като е доказано, че ефикасността на H5 ваксината с вектор шарковия вирус, не се инхибира от майчините антитела.

1.2. Продължителност на имунитета след ваксинация/ инфекция с HPAI при птици.

Основната цел на имунологичния отговор е да идентифицира и да унищожи инфекциозният агент. При гръбначните животни имунната система се състои от два функционални компонента, вроден и адаптивен, които се различават по отношение на това колко бързо реагират на патогени и как ги разпознават. Отговорите на имунната система при заразяване с HPAI се различават значително при различните видове птици. Имунологичните механизми са неясни и зависят от генетичната предразположеност, вирулентността на циркулиращия щам, инфекциозната доза, както и реактивността и имунния статус на макроорганизма

. Вирусът на Инфлуенцата показва висока честота на мутация и способността да пренарежда генни сегменти, което му позволява бързо да промени своя антигенен състав и да избегне адаптивния отговор на имунната система.

В случай на HPAI инфекция, прикрепването на вируса към гостоприемниковата клетка се случва благодарение на взаимодействието между хемаглутинаина и остатъците от сиалова киселина, разположени върху клетките, покриващи повърхността на лигавицата. Последващият имунен отговор трябва да бъде фино контролиран, т.к. прекомерният възпалителен отговор е свързан с увреждането на тъканите. Смята се, че „цитокинова буря“ или неурегулирано покачване на провъзпалителни цитокини, свързани с H5N1 инфекции, е основният фактор, допринасящ за разрушаване на белодробната тъкан. Интерлевкин-6 (IL-6), интерферон (IFN), фактор на туморна некроза (TNF) и хемокини са примери за провъзпалителни цитокини, чиито нива са значително повишени по време на инфекция с грипен вирус. Първичният механизъм на вродена имунна защита срещу вирусни инфекции зависи от степента на производство на IFN и IFN е от решаващо значение в ранните етапи на антивирусния отговор. Когато производството на IFN е нерегулирано, това води до инхибиране на вирусната репликация чрез генериране на антивирусни медиатори и обостряне на имунопатологичната деструкция. В зависимост от времето и интензивността на инфекцията може да има положителни или отрицателни резултати поради тези имунни отговори. В допълнение, алвеоларните макрофаги са имунокомпетентни клетки ангажирани в ранната фаза на инфекция.

Следователно, значението на отговора на антиялото към вирусната инфекция не може да бъде надценено. По-специално, вродените имунни отговори и Т-клетъчните отговори са от решаващо значение за индуциране на протективен антияло обусловен имунен отговор срещу грипни вируси. Проведени са дългосрочни изследвания върху антителния отговор, специфични за грипния вирус, при хора. Въпреки че точните процеси са неизвестни, известно е, че отговорите на антитела, предизвикани от естествено заболяване, често са по-обширни и трайни от реакциите на антителата, предизвикани чрез ваксинация. Трябва да се отбележи, че вродените имунни реакции и Т-клетъчните реакции са от съществено значение за генерирането на мощни реакции на антитела и играят критична роля в защитата срещу вирусна инфекция (Day et al., 2023).

Данни за продължителността на имунитета след инфекция при птици липсват. Наличната информация е само за след ваксинация, като тя варира при различните ваксини. Като правило, след реваксинация протективният имунитет се увеличава. Стандарта за Реакция хемаглутинация, с която се измерва нивото на антителата срещу хемаглутинаина на вируса на Инфлуенцата е: за положителни проби се считат всички с титър над 2^4 . Според WOAH (*Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, twelfth edition, 2023*), обаче когато се касае за протективен имунитет, минималният титър трябва да бъде 2^5 , за да предпази от смърт, и по-голям от 2^7 , за намаляване на репликацията и отделянето на вируса.

2. Преживяване на HPAI в околната среда.

Грипните вируси се разпространяват лесно и като цяло оцеляват добре във вода. Освен това някои видове патици могат да пренасят грипни вируси, без да проявяват клинични признаци на заболяване. Младите патици излъчват най-много вирус и най-често проявяват клинични признаци. Високите титри на вируса се появяват в края на лятото, когато птиците напускат районите за размножаване (Martin et al., 2006). **Преживяването на грипните вируси в околната среда се удължава при ниска относителна влажност и ниска температура в аерозолите, докато ниската температура и високите нива на влага удължават оцеляването им във фецес.** Figueroa et al., установяват, че съществуват и нюанси в оцеляването на вируса спрямо патогенния му потенциал, като съобщават, че високопатогенният AIV персистира много по-дълго от нископатогенния AIV (LPAIV) в постелята, независимо от броя на циклите, в които е използвана постелята.

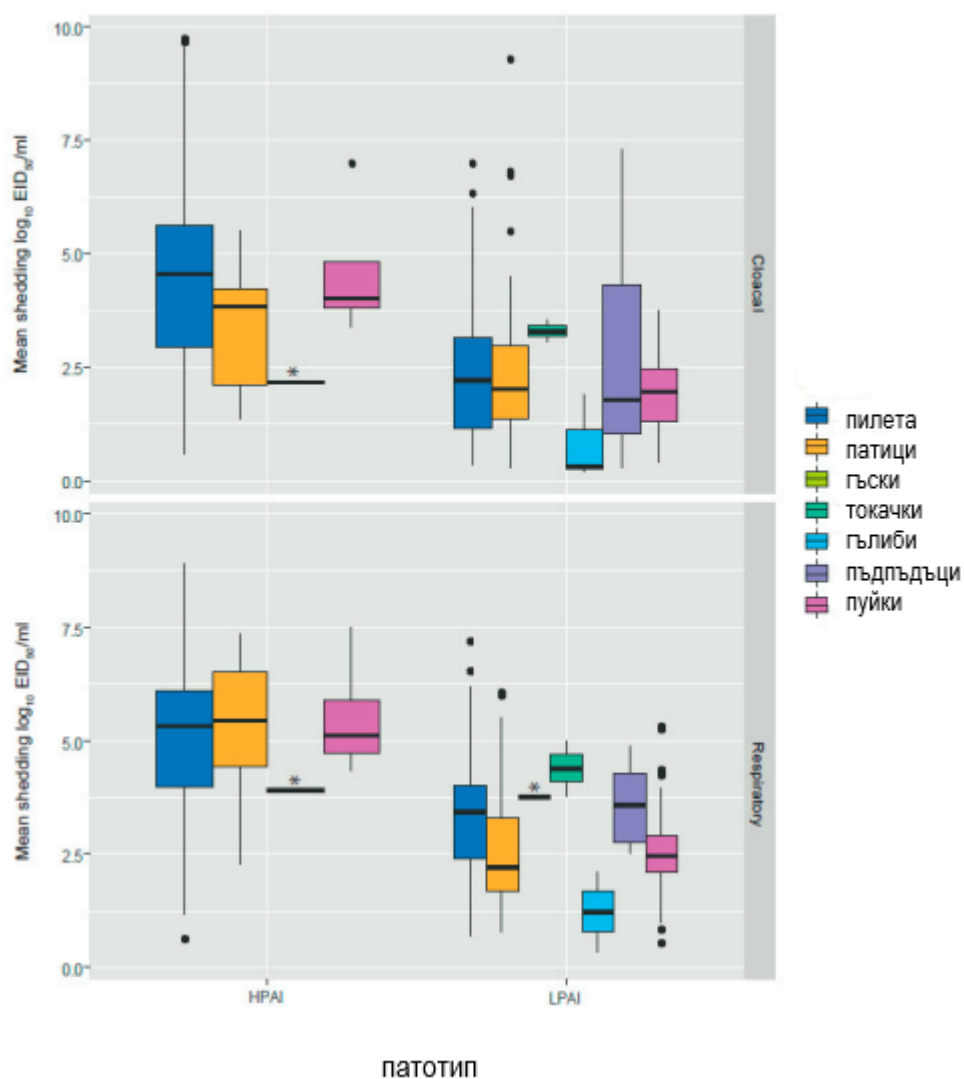
Повечето проучвания за устойчивостта на вируса в околната среда са наблюдавани при ниски температури:

- Вирусът на инфлуенца може да оцелее във фецес най-малко 35 дни при 4° C, а в околната среда в птицефермата до 5 седмици (*Webster et al., 1978*).
- Вирусът може да оцелее и съхрани своята инфективност в езерна вода до 4 дни при 22° C и над 30 дни при 0° C (*Webster et al., 1978*).
- Вирусът е стабилен в диапазон на рН от 5,5 – 8.
- AIV може да бъде изолиран от езерна вода, където има водолюбиви птици.

Подкиселяването на потенциално замърсената питейна вода до рН 2,5 или хлорирането води до минимизиране на разпространението на инфекцията (*Hinshaw et al., 1979*).

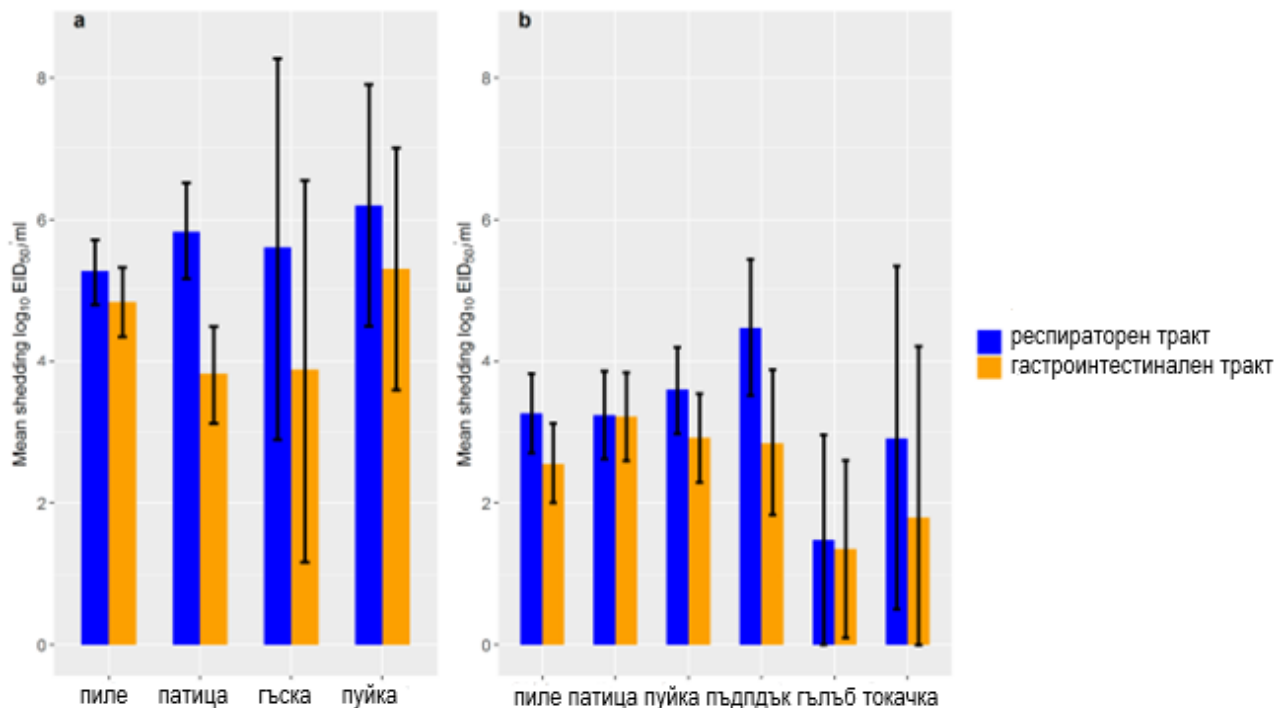
3. Анализи върху количеството на отделяне на вирус домашни птици.

Провеждани са много експерименти за определяне на количеството излъчен вирус при различни видове домашни птици. Проучването на *Gerameraad et al.* показва, че количеството на отделен вирус при птици, заразени с LPAI и HPAI е различно. Вирусоизлъчителството е значително по-ниско при домашни птици (пилета, патици и пуйки), заразени с LPAI, отколкото HPAI. (Фигура 1 и 2).



Фигура 1. Разпределение на средните нива на отделяне на вирус (log₁₀ EID₅₀/mL) в орофаренгиални и клоакални тампони на вирус на високопатогенна инфлуенца по птиците (HPAI) и вирус на нископатогенна инфлуенца по птиците (LPAI), разпределени по видове.

Отделните черни точки са отклонения. * показва данни за гъски (при тях няма достатъчно данни) (*Germeraad et al, 2019*).



Фигура 2. Средна стойност на отделяне на вируса (\log_{10} EID₅₀/mL) чрез респираторен тракт и чрез фекалии (клоака) (а) високопатогенен вирус на инфлуенца по птиците (HPAI) и (б) нископатогенен вирус на инфлуенца по птиците (LPAI).

Обобщените данни от различните опити и експерименти от проучването *Germeraad et al*, се обединяват в следните изводи:

- Домашни птици, заразени с LPAI отделят по-малко вирус от домашни птици, заразени с HPAI.
- Отделянето на вирус чрез респираторния тракт е по-силно от колкото чрез фекалиите, в началото на инфекцията, впоследствие е обратно.
- Разлики при пуйки и гъски в излъчителството на вируса няма.
- Патиците отделят повече вирус от пилетата. Патиците чрез фекалиите отделят по-малко вирус от пилетата, но отделят повече вирус чрез респираторния тракт от пилетата.
- Пилетата отделят по-малко вирус, ако произхожда от различен вид птица, и повече, ако е от хомоложен вид.
- Отделянето на вируса при патиците не зависи от произхода на вируса от кой вид птица.
- Малките пилета отделят по-малко вирус от възрастните.
- Няма разлика в отделянето на вируса при бройлери и носачки.
- Като цяло средното излъчване на вируса при домашните птици след инокулация с HPAIV е средно с почти $2 \log_{10}$ по-високо, отколкото за LPAIV.
- Всички респираторни вирусизлъчители са по-високи от клоакалните, с изключение при патиците и гълъбите.
- Пуйките отделят повече вирус чрез отделителната система от пилетата.
- Гълъбите отделят по-малко вирус в сравнение с пилетата.
- Пъдпъдъците отделят повече вирус чрез респираторния тракт в сравнение с пилетата.
- Токачките отделят вирус както при пилетата.

- Пилетата, заразени респираторно, отделят повече вирус от контактно заразените.
- Всички интраназално инокулирани домашни птици отделят повече вирус от контактно заразените.
- Всички орофарингеално инокулирани домашни птици отделят повече вирус от контактно заразените

4. Продължителност на отделяне на вируса на Инфлуенца А.

Разликите в продължителността на отделянето на AIV чрез респираторния и гастроинтестиналния тракт, между различните видове домашни птици е дадено в таблица 1. Патиците отделят HPAI около четири дни по-дълго от пилетата.

Таблица 1. Продължителност на отделяне на AIV в дни при множество видове домашни птици (*Germeraad et al., 2019*).

Патотип	Вид	Време на отделяне на вируса чрез респираторния тракт (дни)	Време на отделяне на вируса чрез фекалиите (дни)
HPAI	Пилета	2.6 (1.1–6.5)	2.5 (1.0–6.2)
	Патици	6.9 (2.8–17.1)	6.6 (2.7–16.3)
LPAI	Пилета	6.2 (0.8–17.8)	5.5 (0.7–15.7)
	Патици	5.3 (0.7–15.3)	8.2 (1.0–23.3)
	Пуйки	10.0 (1.3–28.7)	14.1 (1.8–40.2)
	Токачки	3.3 (0.4–9.4)	3.3 (0.4–9.4)
	Гъгльби	3.6 (0.4–10.2)	2.8 (0.3–8.0)

5. Домашни патици. Резервоар и „mixing vessel“ на вируса на високопатогенната инфлуенца (HPAI).

Домашните патици играят съществена роля в еволюцията, поддържането и разпространението на HPAI. Проучването на произхода на вирусите от клейд 2.3.4.4b показва, че тези птици играят роля на „съд“ за създаване на нови субтипове (*mixing vessel*). По време на епидемията от H5N1 HPAI в Китай и Азия през 2007-2009 г. популацията от домашни патици беше основен фактор за разпространението на вируса. Патиците имат и основна роля в епидемията през 2016-2018 в Франция (*Lee et al., 2023*).

Инфекциозността и патогенността на HPAI вирусите при патиците варират в зависимост от гостоприемника и вирусните фактори. За да се оценят факторите, влияещи върху инфекциозността и патогенността на HPAI вирусите при патици, *Lee et al.* сравняват два HPAI вируса (H5N1 клейд 2.3.2.1c и H5N6 клейд 2.3.4.4e) при 5- и 25-седмични патици. И двата HPAI вируса причиняват смъртност (104, 106 и 108 EID50) при млади патици. Обратно, възрастните патици са били заразени, но не са показали смъртност при нито един от двата вируса. Вирусната екскреция е по-висока при млади патици, отколкото при възрастни, независимо от щамата HPAI (*Lee et al., 2023*). Други проучвания при естествени и експериментални инфекции са показали, че инфектираните с HPAI диви и домашни водолубиви птици или не проявяват никакви или имат само леки клинични признаци. Например ранните изолати на H5N1 HPAI от Хонконг от 1997 г. показват ограничена инфекциозност при патици (*Leigh Perkins et al., 2002*). Въпреки това, непрекъснатата еволюция на HPAI вирусите е увеличила патогенността им при този вид птици. За разлика от изолатите на H5N1 HPAI от 1997 г., новите изолати на HPAI от 2002 г. причиняват системна инфекция при патици, с високи титри на вируса и патология в множество органи, причинявайки

неврологична дисфункция и смърт (*Sturm-Ramirez et al., 2004*). Прз 2016-2017г. бяха докладвани случаи на масово измиране на качулата потапница (*Aythya fuligula*) в Холандия и Германия, както и висока смъртност на диви птици в крайбрежните и други богати на вода райони на Нидерландия между октомври 2020 г. и юни 2021 г. Скорошни проучвания съобщават, че молекулярните промени, свързани с необичайната смъртност на НРАІ вирусите при патиците, са свързани с гените PA и PB1 на вируса H5N1, гените PA и NS на H5N6 вируса клейд 2.3.4.4 и PB2, NP и M гени на H5N8 вируса клейд 2.3.4.4. Основните механизми обаче не са идентифицирани (*Lee et al., 2023*).

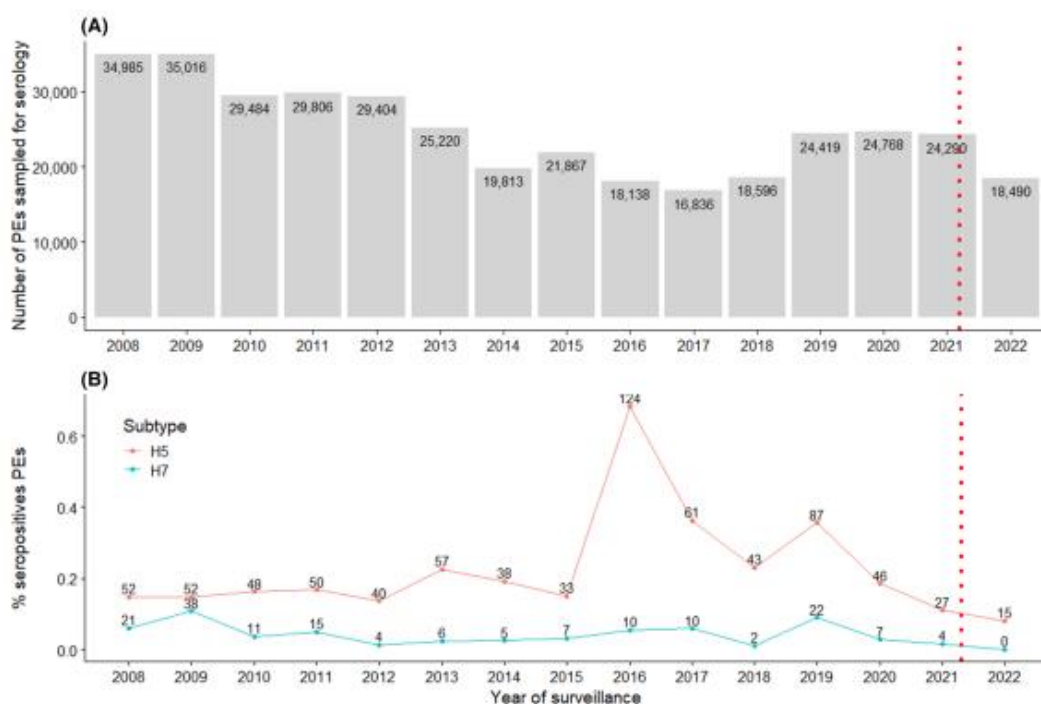
Проучването на *Lee et al.*, показва че по-младите патици са по-податливи както на вирусите от клейд 2.3.2.1с, така и на 2.3.4.4е. Колкото по-малка е възрастта на гостоприемника, толкова по-тежки са клиничните признаци и се наблюдава по-висока смъртност. При заразени патици пробите от трахеални тампони показват по-високи вирусни титри, отколкото от клоакалните. Авторите не наблюдават смъртност при 25-седмични патици, дори при висока доза на инокулиран вирус, което предполага, че възрастните патици могат да играят значителна роля в поддържането и разпространението на НРАІ вируси. Също така, патиците, които отделят вирус, не показват никакви клинични признаци, което показва тяхната роля като тих резервоар на вируса.

Предполага се, че вроденият имунитет и разпределението на рецепторите са фактори, влияещи върху патогенността в различните възрастови групи. Проучвания върху Пекински патици предполагат, че по-високата телесна температура и повишената регулация на вродени имуносвързани гени, включително IFN- α , индуцируем от ретиноева киселина ген I (RIG-I) и IL-6 в далака, може да повлияе на свързаната с възрастта патогенност при H5N1 НРАІ вируса (*Pantin-Jackwood et al., 2012*). Зависещи от възрастта вариации в експресията на α -2,6 сиалова киселина са наблюдавани при патици, гъски и пуйки (*Kimble et al., 2010*). При пуйки моделите на рецепторите на сиаловата киселина се променят с възрастта, което може да доведе до вариации във вирусната репликация и тъканния тропизъм. С остаряването на домашните птици миграцията на лимфоцити към свързаната с периферната мукоза лимфоидна тъкан се увеличава, което може да доведе до смъртност при по-млади патици и по-висок имунен отговор срещу вирусната репликация. Въз основа на тези проучвания е разумно да се предположи, че вариациите във вирусната патогенност могат да възникнат от разликите във вродения имунитет, генната експресия, свързана с имунния отговор, и рецепторната експресия според възрастта. Следователно, анализирането на тези фактори при домашни птици, включително патици на различна възраст, може да осигури важни данни за разбиране на имунните отговори към вирусни инфекции.

Освен възрастта на гостоприемника има значение и вида патица. Например мускусните патици са по-уязвими от пекинските патици. Коинфекциите с други респираторни патогени могат да променят хода на инфекцията. Патогенността също може да бъде повлияна от фактори на околната среда, водещи до по-високи концентрации на вируса и устойчивост, като повишени нива на вируса поради вентилация и по-дълго оцеляване на вируса при благоприятни условия на околната среда (*Pantin-Jackwood et al., 2012*). Като цяло, патогенността на НРАІ вирусите зависи от много фактори, които биха могли да повишат заболяемостта.

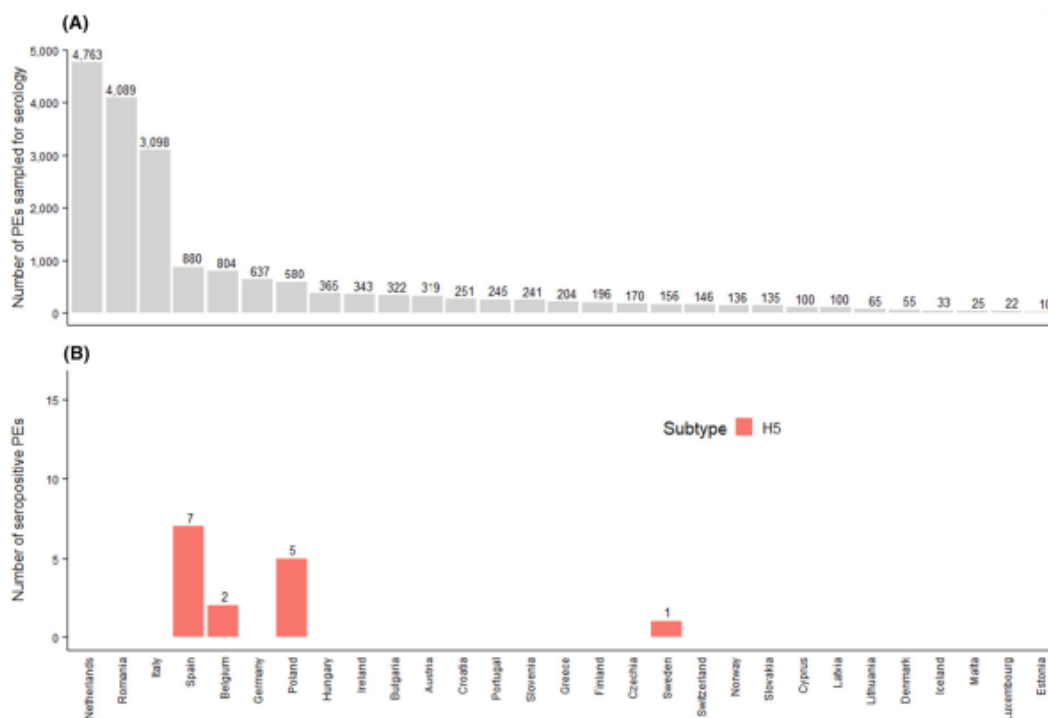
6. Данни за Европа.

Всяка година страните членки на ЕС докладват пред EFSA (Европейски орган по безопасност на храните) тестваните серологично и вирусологично птицеферми. Въз основа на тези данни EFSA периодично изготвя доклади. В последният такъв е упоменато, че след влизането в сила на Делегиран регламент (ЕС) 2020/689 на Комисията, който влезе в сила през април 2021 г., вероятно ще има промени в мониторинговите програми. На фигура 3 е представен по години серологичния сървейланс, както и броят серопозитивни ферми в Европа.



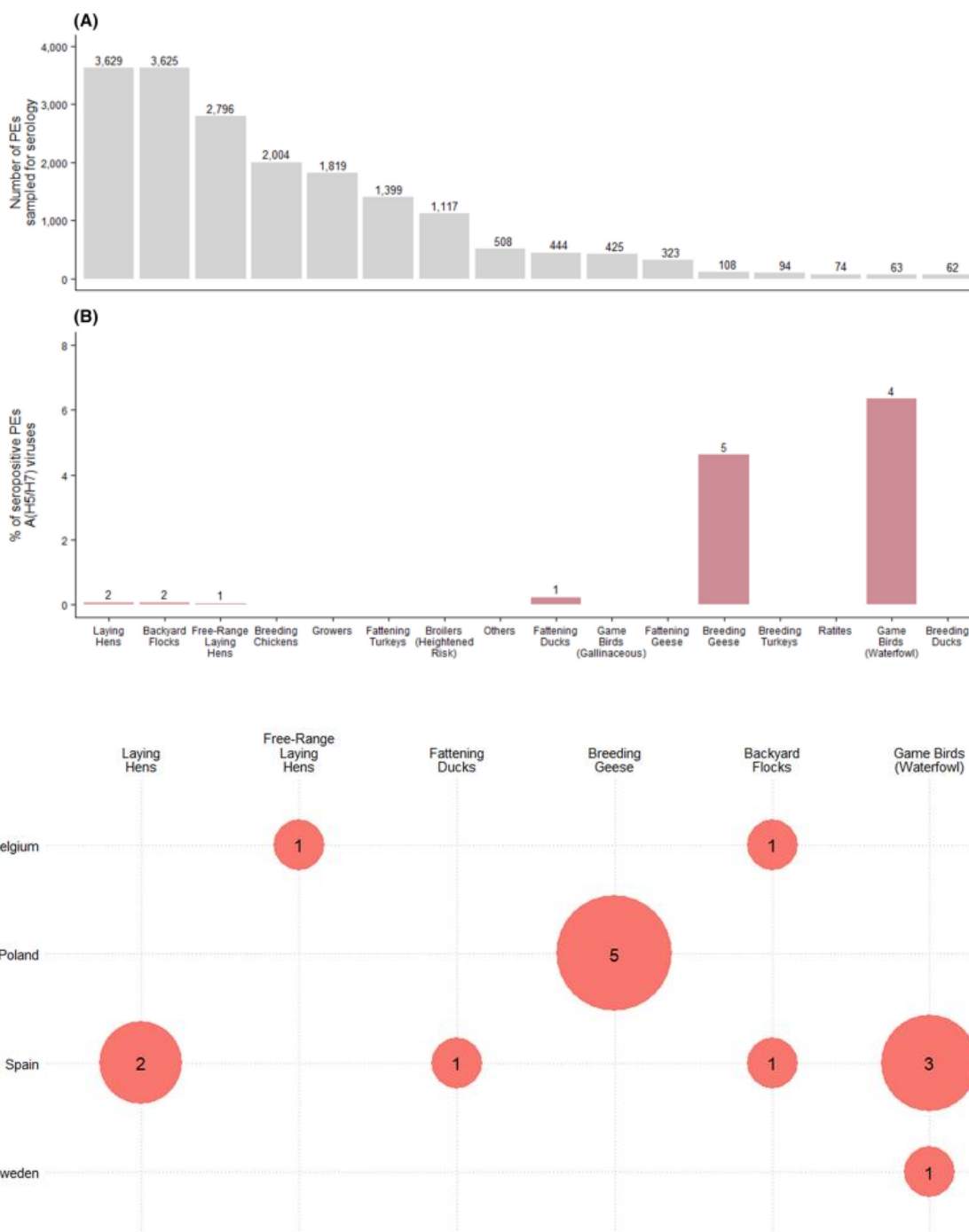
Фигура 3. Общ брой птицеферми, от които са взети серологични проби на година; В. линейна графика на процента на птицеферми, серопозитивни за инфлуенца А (H5/H7). Червената вертикална линия представлява промяната в стратегиите за наблюдение въз основа на Делегиран регламент (ЕС) 2020/689 на Комисията, който влезе в сила през април 2021 г. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2023.8480>

На фигура 4 е представен общият брой тествани серологично ферми, както и в които страни са установени положителни резултати.



Фигура 4. А. Общ брой птицеферми, от които са взети проби за серология през 2022 г.; В. Общ брой серопозитивни ферми. (Забележка: Франция и Обединеното кралство (Северна Ирландия) липсват в списъка, тъй като не са взети проби за серология). <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2023.8480>

На фигура 5, са представени серологични проби по категория домашни птици, като серологично положителни има кокошки носачки, заден двор, патици за гушене, гъски и водоплаващи дивечови птици.



Фигура 5. А. Общ брой птицеферми, от които са взети серологични проби по категория домашни птици; **В.** Общ брой серопозитивни ферми по категория домашни птици; **С.** Брой ферми, серопозитивни за вируси на грип А(Н5) по страна членка и категория домашни птици през 2022 г. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2023.8480>

7. Данни за България.

Серологичният и молекулярно биологичния надзор в страната се извършва в НРЛ гр. София и в четири частни лаборатории в гр. Русе, гр. Пловдив, гр. Сливен и гр. Велико Търново. Обобщените резултати за последните три години са представени в таблица 2.

Таблица 2. Серологични и молекулярно биологични изследвания през 2021 г., 2022 г., 2023 г.: А. Общ брой проби; Б. Положителни проби; В. Процент положителни проби; Г. Проби тествани чрез rRT-PCR. (Данни предоставени от БАБХ)

А.

Година	Общо	Положителни	Отрицателни
2021	12714	40	12674
2022	20186	60	20126
2023	17424	160	17 264

Б.

Година	Положителни проби / вид птици / област
2021	40 / патици за угодяване / Пловдив
	20 / патици за угодяване / Ст. Загора
2022	60 / патици за угодяване / Ст. Загора
2023	20 / патици за угодяване / Ст. Загора
	60 / патици за угодяване / Пловдив
	80 / патици за угодяване / Хасково

В.

Година	положителни %
2021	0,3146
2022	0,2972
2023	0,9183

Г.

Година	rRT-PCR общо	Положителни	Отрицателни
2021	2845	374	2471
2022	5765	362	5403
2023	3468	11*	3457

*11 са огнищата, но не е ясен броят положителни проби

Това което прави впечатление е, че положителни резултати при серологичните тестове се установяват **само при патици за угодяване**. Както бе споменато по горе, този вид птици най-често се сблъсква с вируса, и т.к. са по-устойчиви на въздействието му успяват да придобият антитела. Процентът на положителните проби варира приблизително от 0,3% до 0,9% през различните години. Той е пренебрежително нисък на фона на огромното количество тествани серуми.

За посочения период от три години (2021-2023 г.) е имало огнища в следните области: Бургас, Добрич, Габрово, В. Търново, Хасково, Пазарджик, Плевен, Пловдив, София, Ст. Загора. От таблица 2 се вижда, че в три от тези области е имало и положителни серологично птици. Това е очакван резултат, при условие, че вирусът е циркулирал в тези региони на страната. От по-горе представените данни няма доказателства, че патиците в трите региона са резервоар или разпространител на вируса на Инфлуенца А по птиците, който обхваща кокошевите ферми през 2023г.

Съгласно, предоставения от БАБХ, доклад и филогенетичен анализ на Европейската референтна лаборатория в гр. Падуа (EURL), повечето изолати в България от последната година са генотип DA. **Този генотип е нов за Европа и се открива при диви птици (основно жерави, лебеди и щъркели)**. Най-вероятният произход на генотип DA е от Китай, и в следствие разпространен в Русия и от там в Европа. **От филогенетичното дърво на PB2 протеина се вижда, че българските изолати се клъстерират с вируси изолирани само при диви птици, основно жерави**. Дали този вид е основният преносител на генотип DA за България, не може да се докаже, но е факт че всички заразени жерави в Европа са били

заразени именно с него. Времето на появата му е свързана с миграцията на птиците и с местообитанията им.

От доклада на EURL, се вижда наличието на множество молекулярни маркери, които показват зоонозия потенциал на анализирани от тях вируси от България. Например наличието в PB2 протеина на комбинацията от следните мутации: L89V; G309D; T339K; R477G; I495V; K627E; A676T, води до повишена активност на ензима полимераза в клетки от бозайници и повишена вирулентност при мишки; наличието на мутация C133A в HA протеина, повишава способността му за свързване с α 2-6 рецепторите (Suttie A. et al., 2019). Както е известно повечето пандемии са възникнали при адаптиране на птичи вируси към хора. Тази адаптация включва специфично превключване на рецепторно свързване на хемаглутинин от птичи тип α 2,3- към човешки тип α 2,6-гликозидно свързани сиалови киселини. **Представеният анализ от EURL е сигнал за потенциалната опасност от Инфлуенца А вирусите не само за птиците, но и за здравето на бозайниците и човека.**

8. Изводи и препоръки

- **Птиците по-често не показват клинично проявено заболяване и се явяват резервоар за вируса.** Те играят роля на „съд“ за създаване на нови субтипове (*mixing vessel*). По време на епидемиите през последните години в Европа и Азия домашните патици бяха основен фактор за разпространението на вируса.

- **Наличието на антитела** макар и с нисък титър компрометира ефективността на всяка ваксинационна програма, ето защо е нужно да се изследват кръвни проби точно преди ваксинацията, за откриване на H5-специфични антитела, които потенциално произлизат от майчиния имунитет или естествена инфекция.

- **Ефективността на ваксинацията с живи векторни ваксини не се влияе от наличието на майчини антитела.**

- **Колкото по-млада е възрастта на гостоприемника, толкова по-тежки са клиничните признаци и се наблюдава по-висок леталитет и кумулативна смъртност.** Възрастните патици могат да играят значителна роля в поддържането и разпространението на HPAI вируси. Птиците, които отделят вирус, не показват никакви клинични признаци, което показва тяхната роля като тих резервоар на вируса.

- **Младите патици излъчват най-много вирус и най-често проявяват клинични признаци.** Високите титри на вируса се появяват в края на лятото, когато птиците напускат районите за размножаване.

- **От филогенетичното дърво на PB2 протеина се вижда, че българските изолати се клъстерират с вируси изолирани само при диви птици, основно жерави.** Това е сигнал, че вирусът най-вероятно е „внесен“ във фермите чрез дивите прелетни птици. Спазването на високо ниво на биосигурност, обученият и съвестен персонал, който обслужва птицефермите остават за сега основен начин за предпазване от разпространение на инфекцията.

- **Наличието на множество молекулярни маркери, които показват зоонозия потенциал на анализирани вируси от България е сигнал за опасност както за здравето на животните така и на хората.** Своевременното секвениране на новите вируси, както и публикуването им в световните база данни (<https://gisaid.org/> ; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) е от изключителна важност.

Изготвил:

доц. д-р Габриела Гужгулова,
главен експерт в дирекция ОРХВ, ЦОРХВ
28.02.2024 г.

9. Използвана литература:

1. De Vriese, J., Steensels, M., Palya, V., Gardin, Y., Moore Dorsey, K., Lambrecht, B. 2010. *Passive protection afforded by maternally-derived antibodies in chickens and antibodies' interference with the protection elicited by avian influenza-inactivated vaccines in progeny.* *Avian Diseases.* 54 : 246 – 252 .
2. Di Trani, L., Cordioli, P., Falcone, E., Lombardi, G., Moreno, A., Sala, G. and Tollis, M. 2003. *Standardization of an inactivated H7N1 avian influenza vaccine and efficacy against A/chicken/Italy/13474/99 high-pathogenicity virus infection* *Avian Diseases.* 47 : 1042 – 1046 .
3. Germeraad Evelien A, Pim Sanders, Thomas J Hagenaaars, Mart C.M. de Jong, Nancy Beerens, Jose L. Gonzale. *Virus Shedding of Avian Influenza in Poultry: A Systematic Review and Meta-Analysis.* *Viruses.* 11(9):812.
4. Gilbert M, Xiao X, Pfeiffer DU, Epprecht M, Boles S, Czarnecki C, et al. *H5N1 highly pathogenic avian influenza risk in Southeast Asia.* *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:4769–74. [10.1073/pnas.0710581105](https://doi.org/10.1073/pnas.0710581105).
5. Engelsma M., Heutink R., Harders F., Germraad E.A., Beerens N. *Multiple introductions of reassorted highly pathogenic avian influenza H5Nx viruses claid 2.3.4.4b causing outbreaks in wild birds and poultry in the Netherlands.* *Microbiol Spect.* 2022. 10:e0249921. [doi:10.1128/spectrum.02499-21](https://doi.org/10.1128/spectrum.02499-21).
6. Figueroa, A., Derksen, T., Biswas, S., Nazmi, A., Rejmanek, D., Crossley, B., ... & Gallardo, R. A. (2021). *Persistence of low and highly pathogenic avian influenza virus in reused poultry litter, effects of litter amendment use, and composting temperatures.* *Journal of Applied Poultry Research*,30(1), 100096.
7. Hinshaw V.S., Webster R.G., and Turner B. 1979. *Water-bone transmission of influenza A viruses?* *Intervirology*,11: 66–68.
8. Kimble B., Nieto G.R., Perez D.R. *Characterization of influenza virus sialic acid receptors in minor poutry species.* *Virology.* 2010 . 7:1-10. [doi:10.1186/1743-422x-7-365](https://doi.org/10.1186/1743-422x-7-365).
9. Kim, J-K., Kayali, G., Walker, D., Forrest, H.L., Ellebedy, A.H., Griffin, Y.S. 2010. *Puzzling inefficiency of H5N1 influenza vaccines in Egyptian poultry.* *Proceedings of the National Academy of Sciences USA.* 107 : 11044 – 11049 .
10. Lee Sun-Hak, Jiho Lee, Jin-Yong Noh, Jei-Hyun Jeong, Jun-Beom Kim, Jung-Hoon Kwon, Sungsu Youk, Chang-Seon Song, Dong-Hun Lee. *Age is a determinant factor in the susceptibility of domestic ducks to H5 clade 2.3.2.1c and 2.3.4.4e high pathogenicity avian influenza viruses.* *Front. Vet. Sci.*, 20 July 2023. *Sec. Veterinary Infectious Diseases. Volume 10 – 2023.* <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1207289>.
11. Leigh Perkins LE, Swayne DE. *Pathogenicity of a Hong Kong–origin H5N1 highly pathogenic avian influenza virus for emus, geese, ducks, and pigeons.* *Avian Dis.* (2002) 46:53–63. [doi: 10.1637/0005-2086\(2002\)046\[0053:POAHKO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1637/0005-2086(2002)046[0053:POAHKO]2.0.CO;2).
12. Martin V., A. Forman, J. Lubroth. *A Manual for Countries at Risk.* 2006. Webster, R.G.; Yakhno, M.; Hinshaw, V.S.; Bean, W.J.; Murti, K.G. *Intestinal influenza: Replication and characterization of influenza viruses in ducks.* *Virology* 1978, 84, 268–278.
13. Maas R., S. Rosema, D. van Zoelen, S. Venema. *Maternal immunity against avian influenza H5N1 in chickens: limited protection and interference with vaccine efficacy.* *Avian Pathology.* Vol 40, 2011. Issue 1.
14. Naqi, S.A., Marquez, B. and Sahin, N. 1983. *Maternal antibody and its effect on infectious bursal disease immunizations.* *Avian Diseases.* 27 : 623 – 631 .
15. Pantin-Jackwood MJ, Smith DM, Wasilenko JL, Cagle C, Shepherd E, Sarmiento L, et al. *Effect of age on the pathogenesis and innate immune responses in Pekin ducks infected with different H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses.* *Virus Res.* (2012) 167:196–206. [doi: 10.1016/j.virusres.2012.04.015](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2012.04.015).
16. Piyush Dey, Akanksha Ahuja, Jaishal Panwar, Poonam Choudhary, Shital Rani, Mandeep Kaur, Akanksha Sharma, Jatinder Kaur, Ashok Kumar Yadav, Vikas Sood, Adukamparai R. Suresh Babu, Sanjay K. Bhadada, Gurpal Singh, Ravi Pratap Barnwal. *Immune Control of Avian*

*Influenza Virus Infection and Its Vaccine Development. Vaccines (Basel).*2023 Mar; 11(3): 593. doi:10.3390/vaccines11030593

17. Sturm-Ramirez KM, Ellis T, Bousfield B, Bissett L, Dyrting K, Rehg JE, et al. Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J Virol.* (2004) 78:4892–901. doi: 10.1128/JVI.78.9.4892-4901.2004.

18. Suttie A., Yi-Mo Deng, Andrew R. Greenhill, Philippe Dussart, Paul F. Horwood, Erik A. Karlsson: Inventory of molecular markers affecting biological characteristics of avian influenza A viruses. *Virus Genes.* 2019; 55(6): 739–768. doi: 10.1007/s11262-019-01700-z

19. Tian , G , Zhang , S . , Li , Y . , Bu , Z . , Liu , P. Zhou , J. 2005 . Protective efficacy in chickens, geese and ducks of an H5N1-inactivated vaccine developed by reverse genetics . *Virology.* 341 : 153 – 162 .

20. Otaki , Y . , Saito , K . , Tajima , M. and Normua , Y. 1992 . Persistence of maternal antibody to chicken anaemia agent and its effect on the susceptibility of young chickens . *Avian Pathology,* 21 : 147 – 151 .

21. WOAHP, *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, twelfth edition, 2023. <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access/>

22. EFSA. Annual report on surveillance for avian influenza in poultry and wild birds in Member States of the European Union in 2022. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2023.8480>