

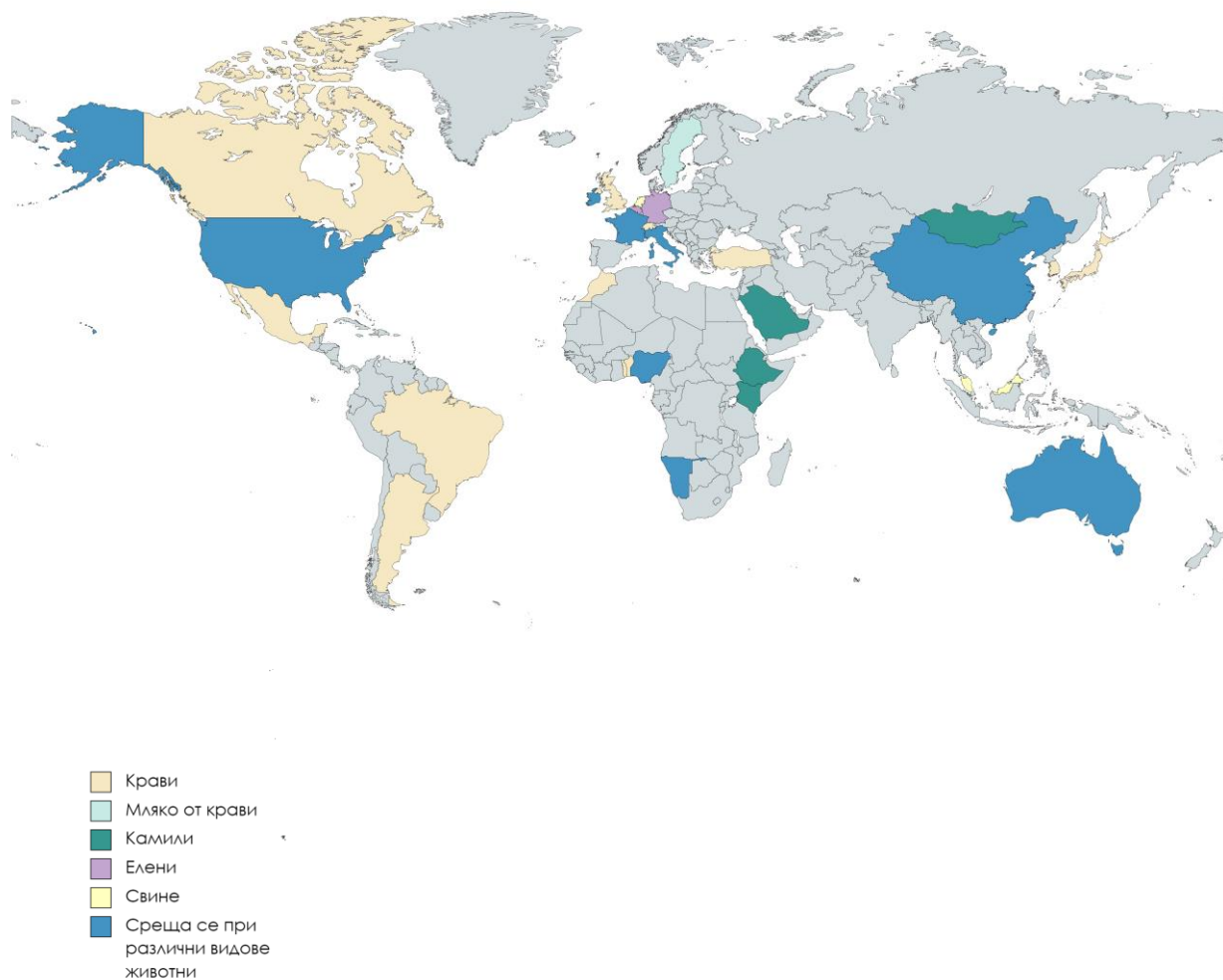


СТАНОВИЩЕ
относно
АНАЛИЗ НА РИСКА ОТ ВЪВЕЖДАНЕ НА ЗАБОЛЯВАНЕТО ИНФЛУЕНЦА D В
БЪЛГАРИЯ.

1. Въведение
2. Етиологичен агент
3. Филогенетика
4. Патогенеза
5. Клинични признаци, диагноза и потенциални ваксини
6. Гостоприемници
- . Оценка на риска
- . Изводи и препоръки
- . Използвана литература

1. Въведение

Инфлуенца D вирусът (IDV) принадлежи към семейство *Orthomyxoviridae*, род *Deltainfluenzavirus*, заедно с грипните вируси от родовете *Alphainfluenzavirus* (Influenzavirus A, IAV), *Betainfluenzavirus* (Influenzavirus B, IBV) и *Gammainfluenzavirus* (Influenzavirus C, ICV). Грипните вируси от различни типове (A, B, C или D) проявяват вариации в структурата на генома, свойствата на повърхностните гликопротеини, антигенността на вирусния нуклеопротеин и матриксния протеин. Грипните вируси, принадлежащи към различни типове, също показват различни диапазони на гостоприемници. Вирусите на грип A проявяват широк тропизъм към гостоприемника, могат да заразят диви птици, свине, коне, прилепи и хора, което води до тежки респираторни заболявания и сезонни епидемии, които имат потенциал да прераснат в пандемии. Основните гостоприемници за IBV и ICV са хората, IBV може да причини сезонни епидемии, докато ICV причинява само леко заболяване. IBV е изолиран от тюлени и прасета; антитела срещу IBV също се съобщават при кучета и коне. ICV понякога може да зарази говеда, кучета и прасета. Серологично доказателство за ICV се съобщава и при популации от коне. Вирусът на грип D е сравнително скорошно открит, идентифициран за първи път през 2011 г. при прасета в САЩ, въпреки че доказателствата сочат неговата циркулация в популациите от говеда поне от 2003 г. (Kwasnik et al., 2023). Към момента вирусът е разпространен в различни държави в Европа, Северна Америка, Южна Америка, Африка, Азия и наскоро Австралия (фигура 1) (Chiapponi et al., 2016, Jiang et al., 2014, Salem et al., 2017).



Фигура 1. Карта на света: страните, в които наличието на инфлуенца D е потвърдено молекулярно или серологично при различни видове животни.

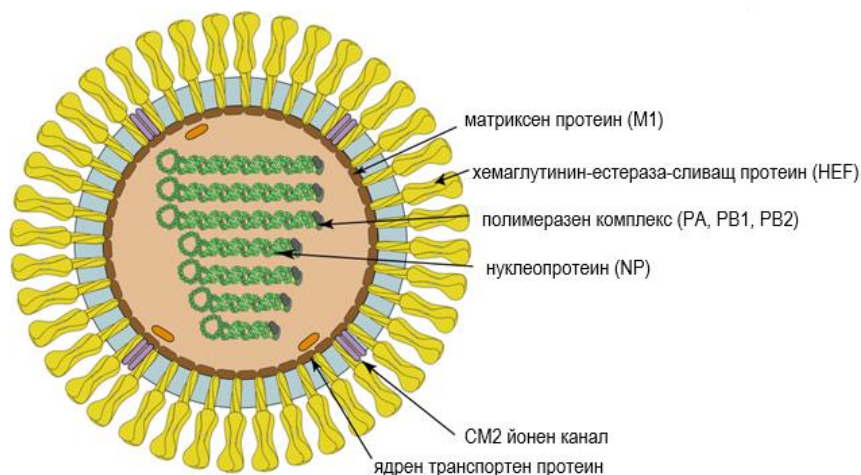
Въпреки че IDV първоначално е открит при прасета, говедата се считат за основния резервоар на вируса. Нарастващият брой проучвания показват, че IDV може да бъде свързан със синдрома на респираторната болест по говедата (BRD). Вирусът е изолиран както от говеда, така и от свине, докато наличието на антитела за IDV е идентифицирано в различни животински видове (Hause et al., 2013, Jiang et al., 2014). Хистохимията на тъканни проби потвърждава потенциала на IDV да се свързва с рецептори в дихателните пътища на различни домашни и диви животни. Сероразпространение на IDV също е установено при хора, особено тези в професионален контакт с говеда. Проучвания върху домашни птици не са показали чувствителност на птиците към IDV инфекция, но молекулярната диагностика разкрива наличието на РНК на IDV в аерозолни проби от птицеферми в Малайзия (Kwasnik et al., 2023).

Поради сравнително скорошното си откритие, IDV е най-малко изследван сред грипните вируси, затова представяме основна информация за структурата на вириона, филогенетичен анализ на циркулиращи щамове, симптоми на заболяването и диагностични методи.

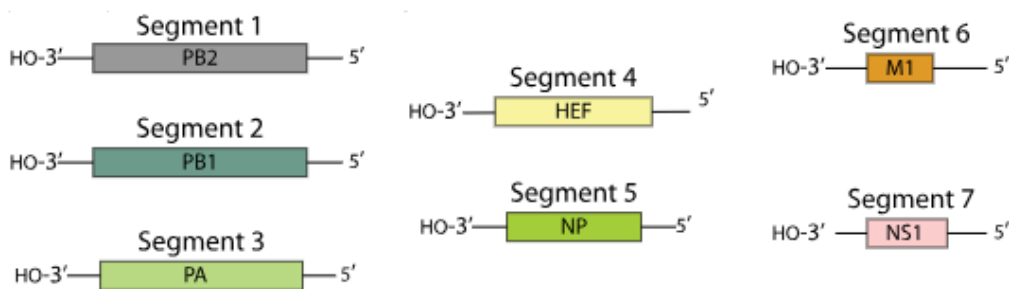
2. Етиологичен агент.

Вирусът на инфлуенца D (IDV) има сферична форма, размери от 80 до 120 nm и е обвит с липидна обвивка (Фигура 2). Притежава сегментиран геном, състоящ се от седем

едноверижни РНК сегмента, кодиращи 9 протеина (Фигура 3). Генетично IDV е най-тясно свързан с вируса на грип тип С. Те споделят около 50% аминокиселинна идентичност и сходна генна структура. Вирусите на инфлуенца D и С имат повърхностен протеин, наречен хемаглутинин-естераза-сливащ протеин (HEF), съчетаващ функцията на хемаглутинаина и неураминидазата при грип А и В. Ролята на този протеин е да повлияе прикрепването и навлизането в клетките гостоприемници. Идентифицирани са пет IDV генетични линии на базата на HEF: D/OK, D/660, D/Yama2016, D/Yama2019 и D/CA2019 (*Kwasnik et al., 2023*).



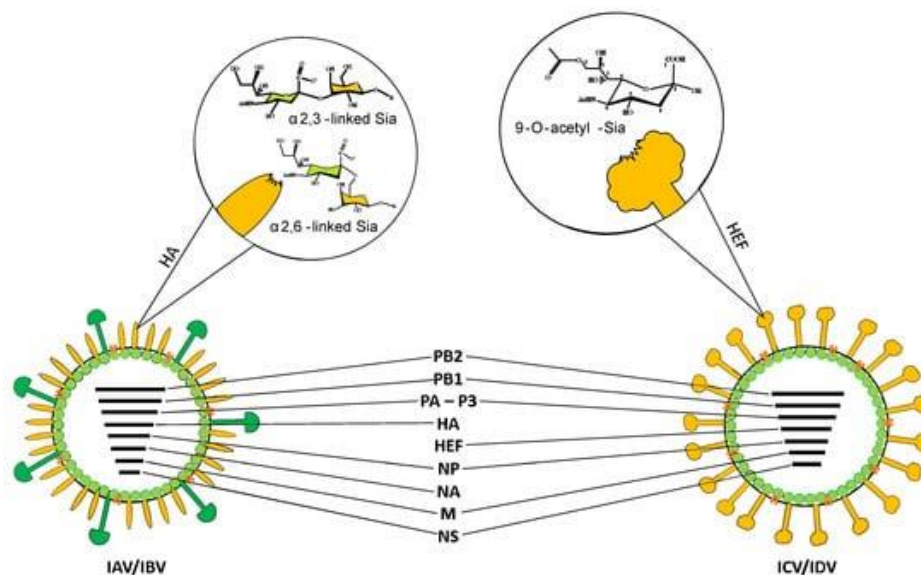
Фигура 2. Структура на вируса на инфлуенца D, видове протеини. [https://viralzone.expasy.org/6077.html?outline=all by species](https://viralzone.expasy.org/6077.html?outline=all%20by%20species)



Фигура 3. Геном на Инфлуенца D вирус (сегменти и протеини). [https://viralzone.expasy.org/6077.html?outline=all by species](https://viralzone.expasy.org/6077.html?outline=all%20by%20species)

Изглежда, че HEF гликопротеинът и протеините M1 и M2 играят решаваща роля в инфекциозността на вируса и определят вида на гостоприемника на вируса. Повърхностният гликопротеин HEF е отговорен за навлизането на вируса в клетката, свързването с рецепторите и сливането на мембраните. **Това е и основният определящ фактор за високата термична и киселинна стабилност на IDV.** Остатъците от сиалова киселина върху гликопротеините на клетъчната повърхност действат като рецептори за грипни вируси. IAV и IBV разпознават α 2,3- или α 2,6-свързани части на сиалова киселина. **IDV се свързва както с Neu5,9Ac2, така и с Neu5Gc9Ac-съдържащи гликани, независимо дали са прикрепени към галактоза чрез α -2,3 или α -2,6 връзка** (Фигура 4). За разлика от това, ICV проявява предпочитание към

Neu5,9Ac2 пред Neu5Gc9Ac. Въпреки различните нива на експресия на тези две 9-О-ацетилвани сиалови киселини в потенциални гостоприемници, се предполага, че IDV може ефективно да се свързва и разпространява. Yu *et al.* сравняват стабилността на IDV с вируси на грип А, В и С след продължителна инкубация при високи температури или в среда с ниско рН. Проучванията показват, че третирането на IDV с буфер с ниско рН няма значителен ефект върху инфекциозността на вируса, докато напълно инактивира IAV. **Резултатите показват, че IDV е най-стабилният сред четирите вида грипни вируси (Kwasnik *et al.*, 2023).**



Фигура 4. Схематичен изглед на грипни вириони (IAV, IAB, IAC, IAD). Посочени са различните протеини, начина на свързване с клетките и предпочитаните рецептори. <https://www.mdpi.com/1999-4915/15/12/2433>

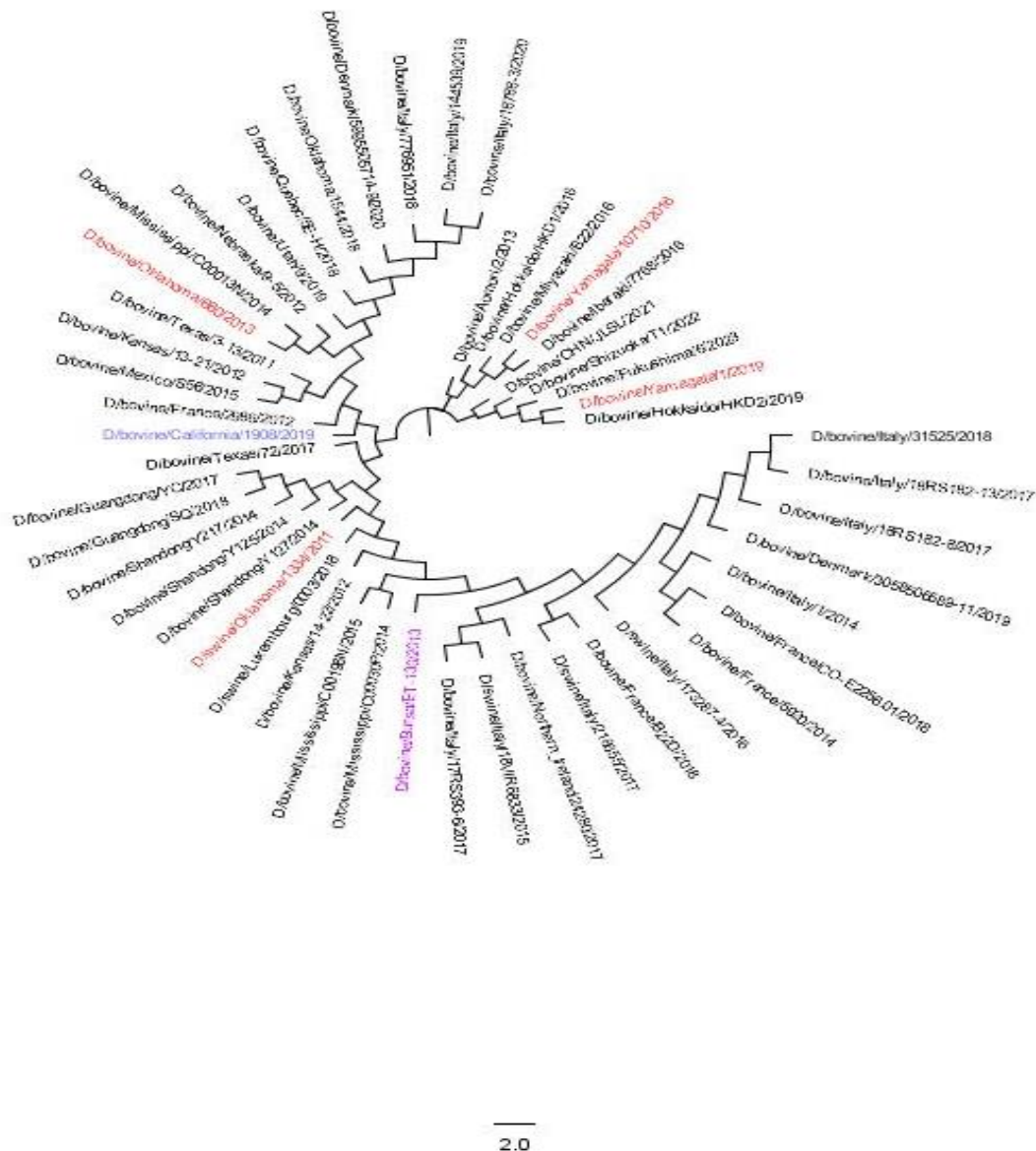
За да може иРНК да бъде преведена в протеин, РНК сплайсингът премахва намесените, некодиращи генни последователности (интрони) от пре-иРНК и свързва протеин-кодиращите последователности (екзони) заедно. Грипният вирус използва клетките на гостоприемника за сплайсинг на вирусните иРНК, експресирани както от М, така и от NS сегменти. Наблюдавани са разлики, в механизма на сплайсинг на М-сегмента за ICV и IDV. При ICV, M1 генът се произвежда чрез сплайсинг, въвеждащ терминацията кодон в пре-иРНК. За IDV допълнителна кодираща последователност от 4 аминокиселини се добавя към предходния екзон. иРНК сплайсинга на М сегмента на IAV осигурява както способността на вируса да циркулира ефективно в различни гостоприемници, така и да се репликира в клетки на бозайници и птици. Възможно е механизмът на синтез на протеини M1 и M2 при различните типове грипни вируси да определя вида на гостоприемника, тъканния тропизъм и чувствителността към ниско рН (Holwerda *et al.*, 2019). При проведени проучвания на използване на кодони на гените HEF и PB1 е установено, че IDV се адаптира към множество гостоприемници, особено говеда. Освен това анализът на индекса на сходство (SiD) разкрива, че прасетата са упражнили по-силен еволюционен натиск върху IDV, отколкото говедата (Chiapponi *et al.*, 2016).

3. **Филогенетика.** Филогенетичните анализи показват циркулирането на четири различни генетични линии IDV:

- **D/swine/Oklahoma/1334/2011 (D/OK), открита в много европейски страни, САЩ, Мексико, Китай и Намибия;**

- D/bovine/Oklahoma/660/2013 (D/660), идентифицирана в Италия, САЩ и Мексико;
- D/bovine/Yamagata/10710/2016 (D/Yama/2016), открита в Япония; и
- D/bovine/Yamagata/1/2019 (D/Yama/2019), открити в Япония и Китай.
- Вирусни щамове от потенциално нови линии са идентифицирани в Калифорния (D/CA/2019), Бразилия и Турция.

Филогенетичните взаимовръзки са показани на Фигура 5.



Фигура 5. Филогенетично дърво на базата на нуклеотидни последователности на IDV HEF сегмент (легенда D/OK, D/660, D/Yama/2016, D/Yama/2019, D/CA/2019, D/Bursa/2013) (секвенциите са взети от базата данни в NCBI, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>; филогенетичното дърво е изработено чрез MEGA11)

Съобщава се, че вирусни щамове от линии D/OK и D/660 често се реасортират и проявяват кръстосана реактивност на антитела. Въпреки това, щамовете, идентифицирани в популацията на говеда в Япония, се различават от тези, изолирани в други страни, и вероятно имат различен еволюционен произход (*Trombetta et al., 2019*).

Генетичните анализи на IDV щамове, циркулиращи в Европа през 2009–2022 г., показват нарастващо разнообразие в резултат на мутации в HEF гликопротеина. Степента на нуклеотидната субституция в HEF гликопротеина при IDV е значително по-висока от HEF на ICV и не са открити значими разлики в HA в сравнение със сезонните човешки H1N1, H3N2 и IBV (*Gaudino et al., 2022*).

4. Патогенеза

Говедата са основният резервоар на IDV, като вирусът е открит в следните тъкани на заразени индивиди: носна кухина, трахея, бронхиоли и белодробна тъкан (на 8-ия ден след инокулацията). Вирусът също така е открит в трахеобронхиалните и медиастиналните лимфни възли.

Най-високият вирусен товар се наблюдава в носната кухина, по-специално в етмоидалните синуси. Високо съдържание на РНК също е открито в обонятелната луковица и сливиците при контролни животни, които са били заразени аерозолно, но IDV тропизъмът за тези тъкани не може да бъде потвърден чрез имунохистохимия или изолиране на вируса и са необходими допълнителни проучвания, за да се потвърди това откритие. IDV има тропизъм към горните дихателни пътища и се репликира преференциално в епителните клетки на тази анатомична област. Той също така се възпроизвежда в долните дихателни пътища, като може да предизвика лека или умерена интерстициална пневмония. Не е известно в кои клетки се репликира IDV в белия дроб: хронологията на това как се репликира и механизмът, по който вирусът причинява увреждане на дихателната система, след като животното е заразено, остават неясни (*Ruiz et al., 2022*).

IDV показва оптимален растеж както при 33° C, така и при 37° C в клетъчни култури, което предполага, че повишената температура не ограничава репликацията на IDV в долните дихателни пътища, където температурите са по-високи, отколкото в горните дихателни пътища (*Ruiz et al., 2022*).

Чрез ELISA се доказва сероконверсия към IDV специфичен IgG при всички директно инокулирани животни 10 дни след експозицията. В допълнение към хуморалния имунен отговор, IDV индуцира и клетъчен имунен отговор. Средната продължителност на екскреция на IDV е $8,1 \pm 1,9$ дни (*Ruiz et al., 2022*).

IDV геномът е открит в серумни проби от болни говеда, което предполага, че вирусът може временно да навлезе в кръвоносната система на животните (виремия) и да се разпространи в други органи. IDV е открит чрез RT-PCR във фекалиите на петия ден след инфекцията и в йеюнума на шестия ден след инфекцията, което съответства на времето на най-голяма вирусна репликация в респираторния тракт. Въпреки че чревният тропизъм и инфекциозността трябва да бъдат потвърдени от имунохистохимия или вирус изолация, тези резултати предполагат възможния път на екскреция на IDV през храносмилателния тракт, в допълнение към вече демонстрираната ороназална екскреция. Също така се предполага, че IDV може да се репликира в чревния тракт по подобен начин на IAV и IBV (*Yu et al., 2022*). Този възможен чревен тропизъм на IDV може да се дължи на високата киселинна стабилност на този вирус. **В допълнение, високата термична и киселинна стабилност на вируса означава, че IDV има висок потенциал за резистентност, което може да обясни неговата висока ефективност на предаване.**

При проведени опити е установено, че всички IDV инфекции – единични или коинфекции – предизвикват хуморален отговор при говеда. За да се оцени хуморалният отговор, антителата срещу IDV се определят в серума чрез реакция хемаглутинация. Телетата сероконвертират срещу IDV седем дни след заразяване. Имуноглобулин А (IgA) и IgG, специфични за IDV, се доказват след седем и десет дни след инфекцията за IgA и IgG, съответно. Тези резултати показват, че **IDV инфекцията предизвиква бърз локален (IgA) и системен (IgG) хуморален имунен отговор** (Ruiz et al., 2022).

Клинични признаци, диагноза и потенциални ваксини

Вирусът на грип D се предава чрез директен контакт и аерозолно на къси разстояния. Повечето данни за клиничната картина на заболяването са свързани с инфекциите при говедата. Възможното наличие на асимптоматични носители също е описано както при говеда, така и при други животински видове. Проучвания, базирани на експериментална инфекция при серонегативни телета, показват, че инфекцията причинява леки до умерени респираторни симптоми, включително суха кашлица, едностранно или двустранно серозно течение от носа и от очите, депресия и задух. Тези симптоми са резултат от възпаление и увреждане на местата за репликация на вируса, т.е. епитела на горните и долните дихателни пътища. Наличието на неутрофили е потвърдено в носа, трахеята и бронхиалния лумен. Клиничните признаци могат да варират в зависимост от наличието или отсъствието на коинфекцията на IDV (Kwasnik et al., 2023). Експерименталната инфекция при прасета показва, че IDV се репликира в горните дихателни пътища на животните, с доказване на вирус в назални тампони, въпреки че не са наблюдавани клинични признаци на инфекция. Други проучвания съобщават, че IDV РНК е открита в белите дробове на прасета, което предполага IDV инфекция и в долните дихателни пътища (Gorin et al., 2019).

За диагностика на заболяването се взимат назофарингеални тампони или белодробна тъкан, както и животински серуми. Директната диагностика на IDV се основава на изолиране на вирус чрез полимеразна верижна реакция (PCR) в реално време. Индиректната диагностика на IDV има за цел да измери серумните антитела срещу IDV, предимно чрез реакция вируснеутрализация и реакция възпиране на хемагутинацията (PBXA).

Реакция възпиране на хемагутинацията - всички серуми първо се третират с рецептор-разрушаващ ензим (съотношение 1:5) от *Vibrio cholerae* (Sigma-Aldrich) за 18 h при 37° C на водна баня, последвано от топлинна инактивация за 1 h при 56° C на водна баня с 8% натриев цитрат (съотношение 1:4) и след това се изпълват 1% (0,35%) конски, пуешки или пилешки червени кръвни клетки за хемадсорбция (Salem et al. 2017, Trombetta et al 2021). Хемагутиниращият титър (HI) се изразява като реципрочна стойност на най-високото серумно разреждане, показващо пълно инхибиране на хемагутинацията. Серумна проба се определя като серопозитивна, когато HI титърът е $\geq 1:10$

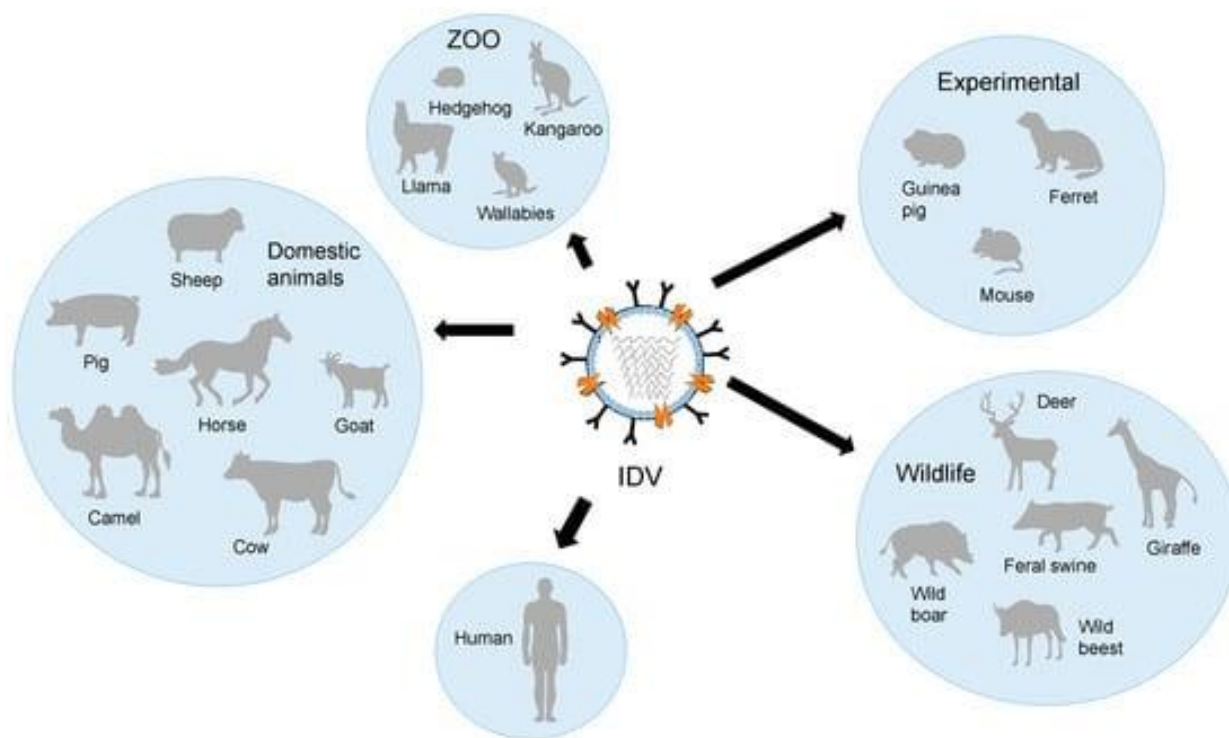
Реакция вируснеутрализация – клетъчните култури MDCK се отглеждат при 37° C в 5% и се инкубират предварително в продължение на 4 часа. Серумните проби се подлагат на топлинна инактивация при 56° C за 30 минути. Проби, разредени два пъти с културална среда ЕМЕМ, допълнена с 0,5% фетален говежди серум, се смесват с равен обем вирус (100 /ямка). След 1 h инкубиране при 37° C в 5% CO₂, 100 µl от сместа се прехвърлят в плака, съдържаща 1,5×10⁴ MDCK/ямка. Плаките се отчитат за хемагутинационна активност в супернатантата след 5 дни инкубиране при 37° C в 5% CO₂. Вируснеутрализационният титър се изразява като реципрочна стойност на най-високото серумно разреждане, показващо липсата на хемагутинация (Trombetta et al 2021).

Има разработена ELISA, базирана на моноклонални антитела, но не е достъпна в търговската мрежа (*Malgorzata et al., 2023*). Еpitope-iELISA открива точно неутрализиращи и не неутрализиращи антитела срещу IDV. За разграничаване между IDV и ICV има разработена блокадна ELISA. Използван е панел от серуми от порове срещу двата вируса. Резултатите предполагат, че както IDV, така и ICV са имали общ предшественик и IDV представлява зоонотичен риск за лица с предишна или настояща експозиция на говеда.

Понастоящем няма налични ваксини срещу IDV. Изпитват се и се тестват няколко вида ваксини (ДНК ваксина, експресираща HEF гликопротеина, инактивирана IDV ваксина при телета, рекомбинантен IDV щам-rD/OK-AL), но към момента няма одобрена.

6. Гостоприемници

За първи път IDV е изолиран от прасета през 2011 г. Известно е, че вирусът циркулира сред говеда, свине, диви свине, камили, дребни преживни животни, коне и диви животни (*Gaudino et al., 2022*). Говедата са резервоар на IDV (*Luo et al., 2017*) и има предпоставка за потенциалната роля на вируса в синдрома на респираторната болест по говедата (BRD), причинена главно от говежди херпесвирус, респираторен синцитиален вирус (BRSV), Мукозна болест – вирусна диария (BVDV), параинфлуенца-3 вирус (BPI3V), говежди коронавирус и някои бактерии като *Mycoplasma bovis*, *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* и *Histophilus somni*. (*Ruiz et al., 2022*)



Фигура 6. Схема на гостоприемниците на IDV (*Kwasnik et al., 2023*). <https://www.mdpi.com/1999-4915/15/12/2433>

Крави. Най-много проучвания на инфлуенца D има при телета. При проведени поучвания в САЩ (2003–2004) в 40 произволно избрани ферми се установява, че приблизително 98% от новородените телета са имали високи нива на майчини антитела срещу IDV (*Luo et al., 2017*). *Silveira et al.*, потвърждават широко серологично разпространение на IDV (около 77,5%), при тестването на 1992 серумни проби от говеда, събрани в САЩ през 2014 и 2015 г. Серологичните изследвания при говеда в Канада също показват наличието на

антитела срещу IDV (5,3%) (Saegerman et al., 2022). Метагеномното характеризиране на вируси, свързани с BRD, потвърждава разпространението на IDV при животни в Мексико (Mitra et al., 2016). В Европа циркулацията на IDV при говеда е докладвана за първи път във Франция през 2012 г. и по-късно е потвърдена в Италия, Дания, Люксембург, Ирландия, Швеция, Швейцария и Обединеното кралство (Goetze et al. 2022, Rosignoli, et al., 2017, O'Donovan et al., 2019, Kwasnik et al., 2023). Най-високото серологично разпространение на IDV в Европа е потвърдено в Ирландия (94,6%), Италия (92,4%) и Люксембург (80,2–82,5%) (Snoeck et al., 2018). Проучванията за наличие на антитела срещу IDV при говеда във Франция показват по-ниска честота - 47,2% (Luo et al., 2017). Трябва да се отбележи, че в Ирландия, Люксембург и Италия тествани серуми са около 400, докато във Франция серопревалентността е оценена чрез тестване на повече от 3000 проби. Молекулярните изследвания, базирани на откриването на IDV генетичен материал в тампони от горните дихателни пътища или белодробни тъкани на крави в Европа, показват нисък процент на положителни животни, например 5,6% в Ирландия, 6,5% в Италия и 8,7% в Обединеното кралство (Kwasnik et al., 2023). В Швейцария при тестване 764 назофарингеални тампони от крави със симптоми на BRD са открити следните патогени: BRSV, 2,1%, BPI3V, 3,3%, BCoV, 53,5% и IDV 4,1% (Struder et al., 2021). В Дания, сред 100 тествани стада телета, IDV е открит при животни от 12 стада (Goetze et al. 2022), а метагеномните анализи показват, че IDV е един от трите водещи вируса, свързани с BRD при млечни телета (Kwasnik et al., 2023). В Швеция в проби от мляко в резервоари за съхранение, събрани през 2019 г. и 2020 г., са установени съответно 32% и 40% положителни за IDV антитела (Alvarez et al., 2023).

При проведени проучвания в Турция на животните, от търговски говедовъдни ферми с респираторни заболявания при телета със значителна смъртност е доказан IDV. **Назални тампони и тъканни проби от говеда в Мармара, Анатолия и Егейски регион на Турция са анализирани чрез RT-PCR анализ в реално време.** Сред 76 проби от 12 стада говеда, IDV е открит при 3 говеда в стадо (Yilmaz et al., 2020).

В Азия IDV е докладван за първи път в Китай през 2014 г., но се предполага, че вирусът е циркулирал в популацията на говеда от 2010 г. (Jiang et al., 2014). Молекулярни изследвания в провинция Гуандун показват, че 12,8% от млекодайните говеда и 7,3% от местните жълти говеда са положителни за IDV. Серологичното разпространение се оценява на 7,8% (n = 193) за млекодайни говеда и 5,9% (n = 51) за биволи (Zhai et al., 2017). Проучванията, проведени в Япония, показват по-високо серологично разпространение на IDV при говеда, отколкото в Китай. Анализът на говежди серуми от Хокайдо (2009 – 2018) показва сероразпространение в диапазона от 45% до 71%, докато друго проучване на животни от Япония (2010 – 2016) показва средно серопреваленс от 30,5% (Hayakawa et al., 2020). По време на проучвания в Хокайдо са изолирани три щамове на IDV. Анализът показва съвместната поява на вируси с различни генотипове и антигенни свойства в тази област (Hayakawa et al., 2020). При молекулярно проучване в Република Корея се потвърждава наличието на IDV в 1,4% от говежди назални тампони и проби от белодробна тъкан (n = 999), докато серологичното разпространение е оценено на 54,7% (n = 742) (Lim et al., 2023).

Серологичното разпространение на IDV при говеда е оценено в някои африкански страни, като Бенин на 1,9% (n = 201), Того на 10,4% (n = 201) и Мароко на 35% (n = 200). Молекулярните изследвания също потвърдиха наличието на IDV при животни в Намибия (Salem et al., 2017).

Първото проучване на IDV в Южна Америка е направено в Бразилия. Установено е, че вирусът е филогенетично различен от известните IDV, описани в Северна Америка, Европа и Азия (*Da Silva et al., 2022*). При проучвания в Аржентина се установява, че сред 165 тествани серума, 68% са положителни за IDV антитела (*Alvarez et al., 2020*).

В Австралия вирус е доказан в назални и назофарингеални тампони при животни със симптоми и без симптоми. Вирусите, циркулиращи в Австралия, са групирани в линиите D/Yama 2016 и D/Yama2019 (*Brito et al., 2023*).

Свине. Циркулацията на IDV в популацията на свинете е потвърдена във Франция, Италия, Ирландия, Люксембург, САЩ, Уганда, Корея и Китай (*Kwasnik et al., 2023*). Машабни тестове са извършени във Франция, където от над 2000 изследвани проби е потвърдено наличието на антитела при 31 серума от прасета. PCR тестът на назални тампони от свине (n = 452) е отрицателен за вируса (*Gorin et al. 2018*). В Италия са изследвани над 800 проби от животни от свинеферми, засегнати от дихателна недостатъчност, като вирусът е установен в 2,3% от пробите. Генетичният анализ показва, че вирусните щамове са свързани с D/swine/Oklahoma/1334/2011. Серологичните тестове, проведени върху над 3000 животни (2015 г.), показват серологично разпространение от 11,7%. Проучване на архивни серуми от 2009 г. показва значително по-нисък процент положителни резултати (0,6%) (*Foni et al., 2017*). В Люксембург серологичното разпространение на IDV при свинете се оценява в диапазона от 0% до 5,9% през 2012–2015 г. (*Snoeck et al., 2018*). В Ирландия серологичното разпространение на IDV при прасета е 5,8% (n = 377) (*O'Donovan et al., 2019*). IDV-серопозитивни прасета също са открити в Уганда, където сред 166 тествани проби 20,5% са положителни. В САЩ през 2016 г. от близо 3000 изследвани проби, IDV е открит в две проби (0,07%). От своя страна, скринингът на свински серуми, събрани през 2011 г. в САЩ (n = 220), показва сероразпространение от 9,5% (*Kwasnik et al., 2023*). Ограниченото молекулярно изследване на проби в провинция Гуангдонг, Китай, показва положителни резултати при 36,8% от тампоните и 28,9% от белодробните проби (*Zhai et al., 2017*). В Корея са тествани повече от 2000 свински назални тампона и проби от белодробна тъкан и серопревалентността на IDV е изследвана чрез тестване на повече от 1600 серумни проби. Наличието на вирусна РНК не е потвърдено, но серопревалентността е оценена на 1,4% (*Lim et al., 2023*). **Проучванията показват, че серологичното разпространение на IDV при прасета в сравнение със серологичното разпространение при говеда е много по-ниско.** Ролята на прасетата конкретно в екологията на IDV все още е не е проучена (*Kwasnik et al., 2023*).

Камили. Проучвания за разпространението на IDV при камили е правено в Африка, Азия и Австралия. В Кения, въз основа на реакция възпирание на хемаглутинацията, извършена при над 290 едногърби камили, серопревалентността е оценена на 99%. Тестването на същите животни за антитела срещу ICV също дава положителен резултат при 94%. Авторите предполагат, че са необходими допълнителни изследвания за изясняване на кръстосаната реактивност на двата вируса (*Salem et al., 2017*). Проучванията върху камили от Етиопия (в район Vati - 21бр. и Fafen - 17 бр.) показват сероразпространение на IDV съответно 95,5% и 17,6% (*Salem et al., 2017*). При тестване на камили се наблюдава много високо серологично разпространение на IDV: 98% в Монголия (n = 100), 100% в Саудитска Арабия (n = 76), 100% в Австралия (n = 23) и 100% в Нигерия (n = 100). Извършени са също тестове за серопревалентност за ICV, но са получени по-ниски стойности на титър в сравнение с IDV. Въпреки, че са тествани ограничен брой проби, **тези проучвания предполагат, че камилите**

могат да играят важна роля в циркулацията на IDV, може би действайки като резервоар на IDV заедно с говедата (*Kwasnik et al., 2023*).

Дребни преживни животни. Чувствителността на овцете и козите към инфекция с IDV е потвърдена, но серологично разпространение е по-ниско, отколкото при говеда, камили или свине. *Mazzetto et al.* доказват, че IDV успешно се реплицира в назални, трахеални и белодробни тъкани на овце (*Mazzetto et al., 2020*). Изследвания, проведени в САЩ и Канада, потвърждават наличието на антитела срещу IDV при 5,2% от овцете (n = 557), докато при изследваните кози 8,8% (n = 91) животни са положителни. Във Франция са изследвани над 1400 серума от овце и над 600 серума от кози от различни части на страната. Проучванията показват сероразпространение от 0,5% за овце и 3,2% за кози. Най-високото сероразпространение на кози от 33,8% (n = 80) е определено по време на проучвания в Китай (*Zhai et al., 2017*). В Того, Африка, серологичното разпространение на вируса сред дребните преживни е оценено съответно на 2,2% и 1,4% за овцете и козите; животински серуми са събрани между 1991 г. и 2015 г. (*Salem et al., 2017*). Последващи проучвания, проведени в Западна и Източна Африка през 2017–2020 г., потвърждават циркулацията на IDV при дребните преживни животни със сероразпространение от 2% (n = 392) и 4,1% (n = 417) при овцете и 3,7% (n = 163) и 4,4% (n = 817) при изследваните кози (*Kwasnik et al., 2023*).

Проучвания в Италия в югоизточна Сицилия, проведени през 2022 г. при овце, показват 28,0% положителни серумни проби (168/600) срещу два щама D/660 и D/OK. В по-мощно проучване във Франция, обхващащо годините 2014 – 2018 г., над 1400 овчи и 600 кози серума от различни региони на Франция са тествани за наличие на IDV-специфични антитела чрез РВХА. Резултатите показват 0,5% положителни проби при овце и 3,2% при кози (*Lanave et al., 2024*). В Ирландия, се наблюдава сероразпространение на IDV от 4,5% при скрининг на събрани 288 серума от овце между 2016 и 2017 г. (*O'Donovan et al., 2019*).

Коне. При проучване на 364 серума от коне в Средния запад на САЩ през 2015 г. се установява 11–12% сероразпространение срещу двете преобладаващи IDV линии (D/OK и D/660). Изследванията, проведени в Обединеното кралство, показват, че 0,3% от животните са положителни при тестване с РВХА, докато в респираторните проби от коне не е открита РНК. (*Kwasnik et al., 2023*). Резултатите от изследването на *Sreenivasan et al.* върху експериментална инфекция по еднокопитни животни показва, че IDV не причинява респираторно заболяване при еднокопитни, обаче вирусът може да се репликира в респираторния тракт на конете и животните сероконвертират, което предполага, че междувидовото предаване на IDV на еднокопитни може да се случи в природата (*Sreenivasan et al., 2022*).

Диви животни. Дивите свине могат да играят важна роля в екологията на IDV в САЩ, като служат като вектор между домашни и диви животни (както при предаването на *Brucella suis* и IAV) (*Ferguson et al., 2018*). Експериментална инфекция при **диви свине** показва, че IDV е в състояние да се реплицира както в горните, така и в долните дихателни пътища; също се наблюдава виремия, но не се проявяват клинични признаци на заболяването при заразените животни (*Ferguson et al., 2018*). Серологичното разпространение при дивите свине е изследвано в 256 серума, събрани от животни от четири американски щата през 2012 – 2013 г., като са доказани 19,1% положителни проби. Освен това, проучване на 96 архивирани IAV-серопозитивни проби показва, че 42,7% от пробите са били положителни (*Ferguson et al., 2018*). В Корсика, Франция 0,5% от серуми от диви свине, ловувани през 2009–2016 г. (n =

644), са имали титри за антитела срещу IDV (Gorin et al., 2019). Изглежда, че във Франция се срещат само случайни инфекции при диви свине.

Архивирани серуми от **белоопашат елен** (WTD, n = 264) от Северна Америка също са тествани за IDV. Резултатите от РВХА теста показват, че 4,9% от животните са серопозитивни (Guan et al., 2022). Серологичното разпространение на IDV също е изследвано при елени в Европа. Анализирани са серуми от шест национални парка с немски **благороден елен, сърна и елен лопатар**. Общото серологично разпространение на IDV е оценено на 12% (n = 150). В Белгия при проучване на архивни серуми от **елени и сърндаци** от 2009–2017 г. за IDV антитела, се установяват 0,7% положителни проби (n = 283) (Oliva et al., 2019). В Намибия IDV РНК е открита при **жирафи** (n = 2) и при **антилопа гну** (n = 1) (Molini et al., 2022).

Серуми от животни, държани в плен в зоологически градини или центрове за диви животни във Франция, също са тествани за IDV (Molini et al., 2022). Изследвания при **таралежи** показват, че от 48 серума 14 са положителни за антитела. Сред 186 серума от животни в плен са потвърдени единични положителни индивиди като **кенгуру, валаби, белоопашати елени, лами** и др. (Molini et al., 2022).

Мишки, морски свинчета, порове, клетъчни линии. Експериментални проучвания са потвърдили чувствителността към IDV инфекция при мишки, морски свинчета и порове (Olivia et al., 2020, Skelton et al., 2019). Въпреки че инфекцията при животните е асимптоматична, промени в белите дробове са наблюдавани както при морски свинчета, така и при мишките. При морските свинчета се наблюдават възпалителни промени, разрушаване на бронхиалния епител и ексудати. Увеличаване на броя на неутрофилите и лимфоцитите в белите дробове се наблюдава при мишки (Olivia et al., 2020). Установено е, че репликацията на IDV при мишки води до активиране на провъзпалителни гени, включително интерферон-гама (IFN- γ) и хемокин CCL2. Проучване *in vitro* за клетъчен тропизъм показва, че IDV може да зарази няколко клетъчни линии като клетки от свински тестис (ST), от кучешки бъбрек Madin-Darby (MDCK), от бъбрек на зелена африканска маймуна (Marc-145), от човешки ректален тумор (HRT-18G) и от човешки белодробен аденокарцином (A549) (Hause et al., 2013).

Зоонозен потенциал на IDV. Изследването на човешки серуми в САЩ и Канада през 2011 г. показва IDV сероразпространение от 1,3%, докато проучване в Италия показва серопревалентност, варираща от 5,1% през 2005 г. до 46% през 2014 г. (Hause et al., 2013). Leibler et al. правят анализ на разпространението на IDV сред тридесет и един работници в пет големи млечни ферми. Доказва се присъствието на IDV в назалните промивки на 67% от хората, като респираторни симптоми липсват при тези работници (Leibler et al., 2023). Въпреки положителните серологични изследвания, няма преки доказателства, че IDV може да зарази хора, и досега не са докладвани инфекции при хора. Изследвания върху свойствата на IDV рецепторите, капацитета за репликация на вируса в модел на човешки респираторен епител, както и откриването на вирусен генетичен материал в биоаерозоли на летището, в болниците и в назални тампони на свиневъди, предполагат, че хората може да са податливи на инфекция (Kwasnik et al., 2023).

7. Оценка на риска

Вирусът на грип D е сравнително нов вирус, открит за първи път през 2011 г. при прасета в САЩ, въпреки че доказателствата сочат, че циркулира в популациите от говеда поне от 2003 г.

В България не е провеждан скрининг за това заболяване, но в световен мащаб се следи разпространението му. Наличието на IDV в Турция е сигнал за евентуална опасност от навлизане на вируса на територията на страната, ако той вече не е наличен (Фигура 7).

Към 1-ви ноември 2022 г. броят на говедата в България е 559.5 хил. броя, което е с 5.1% по-малко спрямо 2021 г. Млечните крави са със 7.9% по-малко (198 хил. броя). Увеличение с 15.2% спрямо 2021 г. се наблюдава при мъжките животни от 1 до 2 години и при юниците за разплод (с 12%). Юниците за угояване на 2 и повече години се увеличават с над 64.8%.

Броят на овцете е 1 096.4 хил. броя (-8.6%). Средният размер на стадата с овце в страната е 69.4 броя и се увеличава с 11.7% в сравнение с предходната година. Броят на овцете майки намалява с 8.3%. Към 1-ви ноември 2022 г. млечните овце майки са 758.8 хил. броя (-11.8%), а месодайните – 170 хил. броя (+11.4%).

Общият брой на козите намалява с 14.4% (до 184 хил. броя), а на козите майки – с 13.1%. В сравнение с предходната 2021 г. броят на свинете намалява до 601.7 хил. броя (-13.4%). Заплодените свине-майки са с 8.2% повече отколкото през 2021 г., а младите незаплождани свине над 50 кг се увеличават с 30.8% спрямо 2021 г. (*Агростатистика, МЗХ, 2022 г.*).



Фигура 7. Районите в Турция, където е проведен мониторинга за IDV.

Съгласно изработеното от *Alvarez et al. EFSA supporting publication* през 2024 г. са определени основни рискови фактори за поява на IDV, като размер на фермата, търговия с живи животни, възраст на говедата, респираторни признаци. Необходими са обаче повече проучвания за истинското разпространение на респираторните клинични признаци при кравите, както и повече изследвания, за да се оцени излагането на хората на IDV, особено във фермите за говеда. Разнообразието на вирусите все още се проучва: идентифицирани са нови вирусни интродукции, както и нови реасортанти, чието различно клинично въздействие или

нива на кръстосана защита все още са слабо проучени. В този контекст на нарастващо вирусно разнообразие, трябва да се стандартизира номенклатурна система за IDV генотиповете.

Първите 3 рискови фактора за въвеждане на вируса в стадата говеда или свине са:

- отбити млади животни, въведени във фермата,
- неотбити млади животни, въведени във фермата,
- връщане на животни от фермата, които са участвали в състезание/събиране.

За свинете допълнителен рисков фактор е близостта до други видове преживни животни (смесени ферми или ферми в радиус от 500 m от зоната на фермата).

Като се има предвид, че понастоящем не съществува специфична търговска ваксина срещу IDV и че стратегията за тестване е сравнително ниска, **трябва да се положат повече усилия за подобряване на нивото на биосигурност срещу IDV за защита на фермите.** Оценката на биосигурността трябва да обхваща: инфраструктура, вентилация, посетители, превозни средства, процедури, и да се генерира автоматично и в реално време. Много важен фактор е близкият контакт между ветеринарния лекар и фермера. Стопаните трябва да са информирани за заболяването и за клиничните признаци, за да могат да подадат своевременно сигнал.

Оценявайки всички фактори и липсата на данни за това заболяване, **нивото на риска за поява на случаи в България се определя като НИСКО (L) към СРЕДНО (M) НИВО на риск** с тенденция да се повиши, ако заболяването навлезе от Турция.

Ниво на риска	Пояснение
Незначителен (N)	Изключително рядък, не заслужава да бъде разглеждан
Много нисък (VL)	Много нисък, но не може да се изключи
Нисък (L)	Рядък, но може да възникне
Среден (M)	Възниква регулярно
Висок (H)	Възниква често
Много висок (VH)	Събитията се случват много често

8. Заключение и изводи

- Инфлуенца D вирусът се различава от другите грипни вируси, по отношение на свойствата на вириона, както и по отношение на обхвата на гостоприемника и резервоара. Както при Инфлуенца А, широкият набор от гостоприемници дава на IDV особена възможност за реасортиране и мутация. **IDV има високата термична и киселинна стабилност което означава, че има висок потенциал за резистентност.**

- В повечето европейски страни, където са проведени проучвания за сероразпространението на вируса при говеда, резултатите показват висок процент положителни животни, същото се установява и в някои части на Азия и САЩ. Говедата могат да играят важна роля в разпространението на IDV по света, включително и като източник на инфекция за други селскостопански животни, диви животни и хора.

- Секвенирането и филогенетичният анализ на гена на хемаглутинин естераза (HEF) показва, че **турският щам е 95% идентичен с европейските и американските вируси, което предполага междуконтинентално му разпространение.** Тези констатации подчертават **необходимостта от стартирането на подобно проучване и в България.**

- Наблюдава се високо серологично разпространение и при камили, които могат да представляват резервоар на IDV в тропическите региони.

- Нивото на серологично разпространение срещу IDV е много по-ниско при прасета, дребни преживни животни и коне в сравнение с говеда.
- Сред дивите животни най-обширните изследвания са проведени върху диви свине в САЩ и различни видове елени както в САЩ, така и в Европа. Резултатите потвърждават наличието на антитела срещу IDV в тези животни. Като се има предвид изобилието както от диви свине в САЩ, така и от елени в Европа, тези групи може да са важни за екологията на вируса.
- Молекулярните или серологични тестове потвърждават появата на IDV инфекция не само при домашни, но и при различни диви животински видове: жирафи, кенгуру, антилопи гну, валаби, ламы, таралежи и др. Предполага се, че грип D може да представлява заплаха като зооноза, защото е потвърдено серологичното разпространение сред хора с професионален контакт с говеда. Изглежда важно да се наблюдава появата на IDV не само при домашни животни, но и при диви животни, които могат да действат като естествени резервоари.
- **Инфекциозността и способността за междувидово предаване на IDV правят вируса нарастваща епидемиологична заплаха, изискваща наблюдение и допълнителни изследвания.**

9. Използвана литература:

1. A
- г 2. Alvarez I., Carrera M., Chiapponi C., Ducatez M., El Agrebi N., Faccini S., Garcia K., Garza Cuartero L., Gaudino M., Meyer G., Moreno A., Näslund K., Quinless E., Rosignoli C., Saegerman C., Sausy A., Sikht F-Z., Snoeck C., Soliani L., Wielick C., Zohari S., 2024. *Developing an integrated approach to assess the emergence threat associated with influenza D viruses' circulating in Europe. EFSA supporting publication 2024:EN-8641. 30 pp. doi:10.2903/sp.efsa.2024.EN-8641*
- т 3. Alvarez, I.J.; Fort, M.; Pasucci, J.; Moreno, F.; Gimenez, H.; Naslund, K.; Hagglund, Å.; Zohari, S.; Valarcher, J.F. *Seroprevalence of Influenza D Virus in Bulls in Argentina. J. Vet. Diagn. Investig. 2020, 32, 585–588.*
- т 4. Alvarez, I.; Hagglund, S.; Naslund, K.; Eriksson, A.; Ahlgren, E.; Ohlson, A.; Ducatez, M.F.; Meyer, G.; Valarcher, J.-F.; Zohari, S. *Detection of Influenza D-Specific Antibodies in Bulk Tank Milk from Swedish Dairy Farms. Viruses 2023, 15, 829.*
- а 5. Brito, B.P.; Frost, M.J.; Anantanawat, K.; Jaya, F.; Batterham, T.; Djordjevic, S.P.; Chang, W.-S.; Holmes, E.C.; Darling, A.E.; Kirkland, P.D. *Expanding the Range of the Respiratory Infectome in Australian Feedlot Cattle with and without Respiratory Disease Using Metatranscriptomics. Microbiome 2023, 11, 158.*
- м 6. Chiapponi, C.; Faccini, S.; Fusaro, A.; Moreno, A.; Prosperi, A.; Merenda, M.; Baioni, L.; Gabbi, V.; Rosignoli, C.; Alborali, G.L.; et al. *Detection of a new genetic cluster of Influenza d virus in Italian cattle. Viruses 2019, 11, 1110.*
- з 7. Da Silva, M.S.; Mosena, A.C.S.; Baumbach, L.; Demoliner, M.; Gularte, J.S.; Kavarini, S.P.; Driemeier, D.; Weber, M.N.; Spilki, F.R.; Canal, C.W. *Cattle Influenza D Virus in Brazil Is Divergent from Established Lineages. Arch. Virol. 2022, 167, 1181–1184.*
8. Ducatez, M.F.; Pelletier, C.; Meyer, G. *Influenza D Virus in Cattle, France, 2011–2014. Emerg. Infect. Dis. 2015, 21, 368.*
- е 9. Ferguson, L.; Luo, K.; Olivier, A.K.; Cunningham, F.L.; Blackmon, S.; Hanson-Dorr, K.; Sun, H.; Baroch, J.; Lutman, M.W.; Quade, B.; et al. *Influenza D Virus Infection in Feral Swine Populations, United States. Emerg. Infect. Dis. 2018, 24, 1020–1028.*

к
о
с
т

10. Foni, E.; Chiapponi, C.; Baioni, L.; Zanni, I.; Merenda, M.; Rosignoli, C.; Kyriakis, C.S.; Luini, M.V.; Mandola, M.L.; Bolzoni, L.; et al. *Influenza D in Italy: Towards a Better Understanding of an Emerging Viral Infection in Swine*. *Sci. Rep.* 2017, 7, 11660.
11. Gaudino, M.; Moreno, A.; Snoeck, C.J.; Zohari, S.; Saegerman, C.; O'Donovan, T.; Ryan, E.; Zanni, I.; Foni, E.; Sausy, A.; Hübschen, J.M.; Meyer, G.; Chiapponi, C.; Ducatez, M.F. *Emerging Influenza D virus infection in European livestock as determined in serology studies: Are we underestimating its spread over the continent?* *Transbound Emerg Dis.* 2021, 68(3), 1125–1135. <https://doi.org/10.1111/tbed.13812>
12. Gaudino, M.; Chiapponi, C.; Moreno, A.; Zohari, S.; O'Donovan, T.; Quinless, E.; Sausy, A.; Oliva, J.; Salem, E.; Fusade-Boyer, M.; Meyer, G.; Hübschen, J.M.; Saegerman, C.; Ducatez, M.F.; Snoeck, C.J. *Evolutionary and temporal dynamics of emerging 396 influenza D virus in Europe (2009–22)*. *Virus Evol.* 2022, 8(2), veac081. <https://doi.org/10.1093/ve/veac081>
13. Gorin, S.; Fablet, C.; Quéguiner, S.; Barbier, N.; Paboef, F.; Hervé, S.; Rose, N.; Simon, G. *Assessment of Influenza D Virus in Domestic Pigs and Wild Boars in France: Apparent Limited Spread within Swine Populations Despite Serological Evidence of Breeding Sow Exposure*. *Viruses* 2019, 12, 25.
14. Goecke, N.B.; Liang, Y.; Otten, N.D.; Hjulsager, C.K.; Larsen, L.E. *Characterization of Influenza D Virus in Danish Calves*. *Viruses* 2022, 14, 423.
15. Guan, M.; Jacobson, O.; Sarafianos, G.; Baroch, J.; Deliberto, T.J.; Wan, X.-F. *Exposure of White-Tailed Deer in North America to Influenza D Virus*. *Virology* 2022, 573, 111–117.
16. Hayakawa, J.; Masuko, T.; Takehana, T.; Suzuki, T. *Genetic and Antigenic Characterization and Retrospective Surveillance of Bovine Influenza D Viruses Identified in Hokkaido, Japan from 2018 to 2020*. *Viruses* 2020, 12, 877.
17. Holwerda, M.; Kelly, J.; Laloli, L.; Sturmer, I.; Portmann, J.; Stalder, H.; Dijkman, R. *Determining the replication kinetics and cellular tropism of influenza d virus on primary well-differentiated human airway epithelial cells*. *Viruses* 2019, 11, 337.
18. Jiang, W.-M.; Wang, S.-C.; Peng, C.; Yu, J.-M.; Zhuang, Q.-Y.; Hou, G.-Y.; Liu, S.; Li, J.-P.; Chen, J.-M. *Identification of a Potential Novel Type of Influenza Virus in Bovine in China*. *Virus Genes* 2014, 49, 493–496.
19. Kwasnik M., J. Rola, W. Rozek. *Influenza D in Domestic and Wild Animals*. *Viruses* 2023, 15(12), 2433; <https://doi.org/10.3390/v15122433>
20. Lanave G., Michele Camero, Chiara Coppola, Serena Marchi, Giuseppe Cascone, Felice Salina, Miriana Coltraro, Amienwanlen E. Odigie, Emanuele Montomoli, Chiara Chiapponi, Vincenzo Cicirelli, Vito Martella, Claudia M. Trombetta. *Serological Evidence for Circulation of Influenza D Virus in the Ovine Population in Italy*. *Pathogens* 2024, 13,162. <https://doi.org/10.3390/pathogens13020162>
21. Leibler, J.H.; Abdelgadir, A.; Seidel, J.; White, R.F.; Johnson, W.E.; Reynolds, S.J.; Gray, G.C.; Schaeffer, J.W. *Influenza D Virus Exposure among US Cattle Workers: A Call for Surveillance*. *Zoonoses Public Health* 2023, 70, 166–170.
22. Lim, E.H.; Lim, S.-I.; Kim, M.J.; Kwon, M.; Kim, M.-J.; Lee, K.-B.; Choe, S.; An, D.-J.; Hyun, B.-H.; Park, J.-Y.; et al. *First Detection of Influenza D Virus Infection in Cattle and Pigs in the Republic of Korea*. *Microorganisms* 2023, 11, 1751.
23. Luo, J.; Ferguson, L.; Smith, D.R.; Woolums, A.R.; Epperson, W.B.; Wan, X.-F. *Serological Evidence for High Prevalence of Influenza D Viruses in Cattle, Nebraska, United States, 2003–2004*. *Virology.* 2017, 501, 88–91.
24. Mazzetto, E.; Bortolami, A.; Fusaro, A.; Mazzacan, E.; Maniero, S.; Vascellari, M.; Beato, M.S.; Schiavon, E.; Chiapponi, C.; Terregino, C.; et al. *Replication of Influenza D Viruses of Bovine and Swine Origin in Ovine Respiratory Explants and Their Attachment to the Respiratory Tract of Bovine, Sheep, Goat, Horse, and Swine*. *Front. Microbiol.* 2020, 11, 1136.
25. Mitra, N.; Cernicchiaro, N.; Torres, S.; Li, F.; Hause, B.M. *Metagenomic Characterization of the Virome Associated with Bovine Respiratory Disease in Feedlot Cattle Identified Novel Viruses and Suggests an Etiologic Role for Influenza D Virus*. *J. Gen. Virol.* 2016, 97, 1771–1784.

26. Molini, U.; Curini, V.; Jacobs, E.; Tongo, E.; Berjaoui, S.; Hemberger, M.Y.; Puglia, I.; Jago, M.; Khaiseb, S.; Cattoli, G.; et al. First Influenza D Virus Full-Genome Sequence Retrieved from Livestock in Namibia, Africa. *Acta Trop.* 2022, 232, 106482.
27. National Center for Biotechnology Information (NCBI), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
28. Nedland, H.; Wollman, J.; Sreenivasan, C.; Quast, M.; Singrey, A.; Fawcett, L.; Christopher-Hennings, J.; Nelson, E.; Kaushik, 343 R.S.; Wang, D.; Li, F. Serological evidence for the co-circulation of two lineages of influenza D viruses in equine populations of the Midwest United States. *Zoonoses Public Health.* 2018, 65(1), e148-e154. <https://doi.org/10.1111/zph.12423>. 345
29. O'Donovan, T.; Donohoe, L.; Ducatez, M.F.; Meyer, G.; Ryan, E. Seroprevalence of Influenza D Virus in Selected Sample Groups of Irish Cattle, Sheep and Pigs. *Ir. Vet. J.* 2019, 72, 11.
30. Oliva, J. *Eco-Epidemiology of Influenza D Virus: Assessment of Host Ranges and Emergence Risk.* Ph.D. Dissertation, Université Paul Sabatier—Toulouse III, Toulouse, France, 2019.
31. Oliva, J.; Mettier, J.; Sedano, L.; Delverdier, M.; Bourgès-Abella, N.; Hause, B.; Loupias, J.; Pardo, I.; Bleuart, C.; Bordignon, P.J.; et al. Murine Model for the Study of Influenza D Virus. *J. Virol.* 2020, 94, e01662-19.
32. Rosignoli, C.; Faccini, S.; Merenda, M.; Chiapponi, C.; de Mattia, A.; Bufalo, G.; Garbarino, C.; Baioni, L.; Bolzoni, L.; Nigrelli, A.; et al. Influenza D Virus Infection in Cattle in Italy. *Large Anim. Rev.* 2017, 23, 123–128.
33. Ruiz Miguel, Andrea Puig, Marta Bassols, Lorenzo Fraile, Ramon Armengol. Influenza D Virus: A Review and Update of Its Role in Bovine Respiratory Syndrome. *Viruses.* 2022;14(12):2717. doi: 10.3390/v14122717
34. Saegerman, C.; Gaudino, M.; Savard, C.; Broes, A.; Ariel, O.; Meyer, G.; Ducatez, M.F. Influenza D Virus in Respiratory Disease in Canadian, Province of Québec, Cattle: Relative Importance and Evidence of New Reassortment between Different Clades. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022, 69, 1227–1245.
35. Salem Elias, Elizabeth A J Cook, Hicham Ait Lbacha, Justine Oliva, Félix Awoume, Gilbert L Aplogan, Emmanuel Couacy Hymann, Dishon Muloi, Sharon L Deem, Said Alali, Zaid Zouagui, Eric M Fèvre, Gilles Meyer, Mariette F Ducatez. Serologic Evidence for Influenza C and D Virus among Ruminants and Camelids, Africa, 1991-2015. *Emerg Infect Dis.* 2017 Sep;23(9):1556-1559. doi: 10.3201/eid2309.170342.
36. Snoeck, C.J.; Oliva, J.; Pauly, M.; Losch, S.; Wildschutz, F.; Muller, C.P.; Hubschen, J.M.; Ducatez, M.F. Influenza D Virus Circulation in Cattle and Swine, Luxembourg, 2012–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2018, 24, 1388–1389.
37. Silveira, S.; Falkenberg, S.M.; Kaplan, B.S.; Crossley, B.; Ridpath, J.F.; Bauermann, F.B.; Fossler, C.P.; Dargatz, D.A.; Dassanayake, R.P.; Vincent, A.L.; et al. Serosurvey for Influenza D Virus Exposure in Cattle, United States, 2014–2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2019, 25, 2074–2080.
38. Studer, E.; Schonecker, L.; Meylan, M.; Stucki, D.; Dijkman, R.; Holwerda, M.; Glaus, A.; Becker, J. Prevalence of BRD-Related Viral Pathogens in the Upper Respiratory Tract of Swiss Veal Calves. *Animals* 2021, 11, 1940.
39. Skelton, R.M.; Shepardson, K.M.; Hatton, A.; Wilson, P.T.; Sreenivasan, C.; Yu, J.; Wang, D.; Huber, V.C.; Rynda-Apple, A. Contribution of Host Immune Responses Against Influenza D Virus Infection Toward Secondary Bacterial Infection in a Mouse Model. *Viruses* 2019, 11, 994.
40. Sreenivasan, C.C.; Uprety, T.; Reedy, S.E.; Temeeyasen, G.; Hause, B.M.; Wang, D.; Li, F.; Chambers, T.M. Experimental Infection of Horses with Influenza D Virus. *Viruses* 2022, 14, 661.
41. Trombetta, C.M.; Marchi, S.; Manini, I.; Kistner, O.; Li, F.; Piu, P.; Manenti, A.; Biuso, F.; Sreenivasan, C.; Druce, J.; Montomoli, E. Influenza D Virus: Serological Evidence in the Italian Population from 2005 to 2017. *Viruses.* 2019, 12(1), 30. 347 <https://doi.org/10.3390/v12010030>.
42. Trombetta Claudia Maria, Emanuele Montomoli, Ilaria Di Bartolo, Fabio Ostanello, Chiara Chiapponi, Serena Marchi. Detection of antibodies against influenza D virus in swine veterinarians in Italy in 2004. *Jornal od Medical Virology.* 2021. <https://doi.org/10.1002/jmv.27466>

43. Yilmaz, A.; Umar, S.; Turan, N.; Aydin, O.; Tali, H.E.; Oguzoglu, T.C.; Yilmaz, H.; Richt, J.A.; Ducatez, M.F. *First Report of Influenza D Virus Infection in Turkish Cattle with Respiratory Disease. Res. Vet. Sci.* 2020, 130, 98–102.

44. Yu Jieshi, Tianyu Li, Zhenyu Wen, Siyu Wu, Zhilin Wang, Jiaying Zheng, Mingwang Chen, Faming Chen, Wen-Kang Wei, Shao-Lun Zhai, Ming Liao. *Identification of D/Yama2019 Lineage-Like Influenza D Virus in Chinese Cattle. Front Vet Sci.* 2022; 9: 939456. doi:10.3389/fvets.2022.939456

45. Zhai, S.-L.; Zhang, H.; Chen, S.-N.; Zhou, X.; Lin, T.; Liu, R.; Lv, D.-H.; Wen, X.-H.; Wei, W.-K.; Wang, D.; et al. *Influenza D Virus in Animal Species in Guangdong Province, Southern China. Emerg. Infect. Dis.* 2017, 23, 1392–1396.

ИЗГОТВИЛ:

Доц. Д-р Габриела Гужгулова,

Дирекция „Оценка на риска по хранителната верига“, ЦОРХВ

14.05.2024 г.