

Zakażenia wirusem grypy typu A u gołębi¹

Celia Abolnik

z Katedry Badań nad Zwierzętami Produkcyjnymi Wydziału Nauk Weterynaryjnych Uniwersytetu Pretorii (Republika Południowej Afryki)

Influenza A virus infections of pigeons

Abolnik C., Department of Production Animal Studies, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria, South Africa

Influenza A viruses of all subtypes, in their low pathogenic state, form part of the natural microbiota of water bird species. Four intercontinental transmission waves of Goose/Guangdong H5 lineage viruses swept the globe since 2005, each characterized by epidemics in poultry and contact transmission to humans. A significant shift in ecology of avian influenza had occurred. The risks that columbids pose in the ecology and epidemiology of AI have been thoroughly investigated over the course of several decades. Cumulatively, the studies on free-living pigeons, market pigeons and those experimentally infected with LPAI and HPAI demonstrated, that pigeons were of no epidemiological significance in the transmission and spread of HPAI to humans.

Keywords: avian influenza, epidemiology, pigeons.

Nisko patogenne wirusy grypy A (avian influenza virus – AIV) wszystkich podtypów stanowią część naturalnego mikrobiomu (wirobiomu) ptaków wodnych. Wirusy te namnażają się w komórkach nabłonkowych wyściełających układ oddechowy i jelita. Wydalane są wraz z wydzieliną z jamy dziobowej i kałomoczem do środowiska, przy czym gospodarz nie wykazuje żadnych klinicznych objawów chorobowych. Podtypy wirusa (lub serotypy) są wyróżniane na podstawie różnic w budowie dwóch głównych antygenów obecnych w wypustkach na powierzchni zarazka, mianowicie białek hemaglutyniny (H) – u ptaków od H1 do H16 i neuraminidazy (N) – u ptaków od N1 do N9 (np. H5N1).

Ze wszystkich podtypów wirusa grypy A tylko izolaty H5Nx i H7Nx (gdzie x oznacza dowolny typ N) są przyczyną wysoce patogennej i śmiertelnej choroby drobiu i ludzi zwanej grypą ptaków. Kiedy wirusy H5Nx lub H7Nx o niskiej chorobotwórczości (low pathogenic avian influenza – LPAI) krążą przez dłuższy czas w podatnych na zakażenie stadach drobiu, wysoce patogenne formy wirusa (highly pathogenic avian influenza – HPAI) mogą powstać w wyniku mutacji w genomie wirusowego RNA, a szczególnie w genie kodującym białko hemaglutyniny. Podczas gdy zakażenie wirusami LPAI jest zlokalizowane w komórkach nabłonkowych i powoduje łagodne infekcje dróg oddechowych, zapalenie spojówek i spadki nieśności, z których drób zwykle zdrowieje, wirusy HPAI są w stanie atakować znacznie szerszy zakres tkanek i komórek, powodując zakażenie ogólnoustrojowe, które zwykle objawia się jako: depresja, naroszenie piór, zapalenie spojówek, sinica nieopierzanej skóry, ciężkie objawy ze strony układu

oddechowego i/lub neurologiczne, po których następuje szybka śmierć.

Potencjalnie patogenne wirusy LPAI – H5Nx i H7Nx są objęte obowiązkiem zgłaszania, ponieważ od 1959 r. ich konwersja do HPAI – H5Ns lub H7Nx została wykazana u drobiu 42 razy (1). Czterdzieści z tych mutacji spowodowało lokalne ogniska zakażeń w kilku krajach, z których większość trwała krócej niż rok, a tylko kilka trwała do dwóch lat. Wyjątkami były długo utrzymujące się ogniska zakażeń wirusem podtypu H7N3 w Meksyku, które rozpoczęły się w 2012 r. i zakażenia podtypem H7N9 w Chinach w latach 2016–2019. Tylko 2 z 42 przypadków mutacji HPAI spowodowało epizootie obejmujące wiele krajów. W 2003 r. epizootia H7N7 HPAI dotknęła drób w Holandii, Belgii i Niemczech, ale ostatecznie została ona szybko opanowana za pomocą działań, które obejmowały ograniczenia przemieszczania i masowy ubój zakażonych stad. Druga, dużo bardziej groźna mutacja związana z wirusem wysoce zjadliwej grypy ptaków podtypu H5N1 o niespotykanym znaczeniu i skali epidemii obejmującej cały świat, została stwierdzona w drugiej połowie lat 90. XX wieku. W 1996 r. wirus HPAI H5N1 pojawił się na targowiskach żywych ptaków w Chinach, a jego następcy stali się znani jako linia H5N1 Goose/Guangdong. W miarę upływu czasu kłady i podkłady wirusa dynamicznie się rozprzestrzeniły, a następnie szczepy adaptowane do drobiu powróciły do ptaków wolno żyjących i pojawiły się na międzykontynentalnych szlakach migracyjnych ptaków rozciągających się od Azji Południowo-Wschodniej po Syberię, dalej Europę Zachodnią, Środkowy Wschód i Południe, aż do Afryki Zachodniej i Środkowej (1). Od 2005 r. przez świat przetoczyły się cztery międzykontynentalne fale rozprzestrzeniania się wirusów linii Goose/Guangdong H5, z których każda charakteryzowała się masowymi zachorowaniami drobiu i spowodowała wysoką śmiertelność, masowe wybijanie stad, transmisję kontaktową (o wysokiej śmiertelności) na ludzi i w konsekwencji poważne straty ekonomiczne w dotkniętych regionach, z wynikającymi z tego bardzo dotkliwymi ograniczeniami handlu.

W tym okresie nastąpiła znacząca zmiana w ekologii wirusa grypy ptaków: szczepy HPAI przystosowały się nie tylko do wywoływania subklinicznych zakażeń u niektórych wysoce mobilnych gatunków ptaków wodnych, ale po raz pierwszy w historii utworzyły rezerwuar HPAI, na podstawie którego powstały nowe warianty mogące sezonowo pojawiać i rozprzestrzeniać się, gdy ptaki migrują między swoimi północnymi lęgówkami a zimowiskami na południu kuli ziemskiej.

Gatunki nosicieli wirusa różnią się wrodzoną podatnością na wirusy grypy, co określa się na podstawie rodzajów i rozmieszczenia receptorów na powierzchni

¹ Wykład wygłoszony podczas I Światowego Kongresu Międzynarodowego Stowarzyszenia Lekarzy Weterynarii Patologów Gołębi w Warszawie, marzec 2020. Przetłumaczył z j. angielskiego lek. wet. Krzysztof Adamczyk.

komórek, które atakuje patogen, a także wyjątkowej zdolności odpowiedzi komórkowej układu immunologicznego gatunku. Tak więc między rzędami ptaków istnieje bardzo duże zróżnicowanie naturalnej podatności na zakażenie i zdolności do przenoszenia wirusów grypy A, na którą ma również wpływ wiek i status immunologiczny danego osobnika. Z jednej strony skali wrażliwości na zakażenie znajdują się ptaki wodne, naturalny rezerwar zarazka. Kaczki, gęsi i ptaki siewkowe (*Charadriiformes*) zakażają się wirusem grypy A, ale wykazują niewiele objawów klinicznych, wydalają patogen w dużych ilościach do środowiska, ale nie dochodzi u nich do mutacji szczepów LPAI do form wysoce zjadliwych. Pośrodku skali znajdują się bezgrzebieniowce, na przykład strusie, które są podatne na zakażenie wirusami od dzikich ptaków, wydalają znaczne ilości wirusa, ułatwiające rozprzestrzenianie się infekcji w stadzie, i są zdolne do ułatwiania mutacji z LPAI na HPAI, ale wykazują niewiele objawów klinicznych po zakażeniu szczepami HPAI. Na przeciwnym biegunie skali znajdują się ptaki grzebiące, takie jak kury, indyki i przepiórki. Po zakażeniu u tych ptaków może dochodzić do mutacji szczepów LPAI na HPAI, sięją one duże ilości wirusa, są zatem wysoce wydajnymi transmitterami, ale są bardzo podatne na chorobę, która przebiega u tych gatunków z wysoką śmiertelnością.

Rodzi się więc ważne pytanie, gdzie zatem na skali wrażliwości na zakażenie wirusem grypy typu A znajdują się gołębie. Niektórzy badacze twierdzą, że bliskie powiązanie wolno żyjących gołębi z ludźmi w siedliskach miejskich i na fermach drobiu, a także międzynarodowe przemieszczanie gołębi pocztowych na konkursy stawia rodzaj *Columba* w grupie wysokiego ryzyka w zakresie wprowadzania i przenoszenia wirusów grypy ptaków.

Zagrożenia, jakie stanowią gołębie w ekologii i epidemiologii grypy ptaków, zostały dokładnie zbadane w ciągu kilku ostatnich dziesięcioleci. W latach 1985–2013 naukowcy badali gołębie dzikie, hodowlane i mięsne na rynkach żywych ptaków w Azji, Europie, Afryce, Ameryce Północnej, na Karaibach i Australii, często w regionach, w których w tym czasie wybuchły epidemie HPAI. W trakcie tych badań określano dwa kluczowe wskaźniki, a mianowicie obecność swoistych przeciwciał przeciwko wirusowi grypy A w surowicy, co wskazuje na niedawną ekspozycję na zakażenie oraz obecność wirusa/ materiału genetycznego zarazka, w materiale pobranym od danego ptaka.

W 12 badaniach obejmujących 2046 gołębi u 8,01% testowanych ptaków badanie serologiczne dało wynik pozytywny pod względem ekspozycji na liczne podtypy AIV (H1Nx, H5Nx, H9Nx). W 29 badaniach, w których badano obecność wirusa za pomocą testów molekularnych lub izolacji wirusa, tylko 1,1% z 6155 zbadanych gołębi aktywnie siało wykrywalne poziomy zarazka. Zidentyfikowano tylko szczepy H3Nx, H7Nx, H9Nx i H14Nx.

Aby jednak bezpośrednio ocenić wrażliwość i zdolność gołębi do przenoszenia wirusa, od 1944 r. przeprowadzono kliniczne badania infekcji w kontrolowanych warunkach zakażenia eksperymentalnego ze szczepami LPAI i HPAI. Do 2013 r. w 21 badaniach wykonanych

w różnych krajach świata oceniono *in vivo* szczepy LPAI: H5N1, H5N2, H6N1, H7N1, H7N3 i H9N2 oraz szczepy HPAI: H5N1, H5N2, H5N9, H7N1 i H7N7. Z ogólnej liczby 88 gołębi eksperymentalnie zakażonych wirusami LPAI tylko trzy ptaki (3,64%) w jednym badaniu zachorowały lub padły. W tym konkretnym eksperymencie wszystkie trzy gołębie zostały poddane indukowanej chemicznie immunosupresji. Podobnie w badaniach, w których gołębiom podawano różne dawki szczepów HPAI, 23 z 627 (3,67%) ptaków padło. Spośród tych upadków na grupę eksperymentalną przypadało tylko 1–2 przypadki śmiertelne, a upadki można wiązać z równoczesnym zakażeniem/zarażeniem innymi patogenami (np. kokcydiami), stresem środowiskowym lub zbyt wysokimi dawkami wirusa przekraczającymi 100 mln EID (EID – egg/embryo infective doses – dawek zakaźnych dla jaj/zarodków), które przytłumiły odpowiedź immunologiczną ptaków. Tak więc ponad 75% gołębi poddanych zakażeniu kontrolnemu wirusami HPAI nie wykazywało żadnych objawów klinicznych, ale tam, gdzie występowały objawy kliniczne, często były stwierdzane zaburzenia neurologiczne. Natomiast u ponad 75% kurcząt inokulowanych tymi samymi dawkami i izolatami wirusa w ciągu kilku dni występowały ostre objawy kliniczne i upadki. Badanie poziomu przeciwciał wykazało, że niektóre, ale nie wszystkie, gołębie poddane zakażeniu kontrolnemu wykazywały serokonwersję. Zjadliwy wirus często wykrywano w narządach wewnętrznych, w tym w mózgu, wątrobie, trzustce, śledzionie, grasicy, sercu, bursie Fabrycjusza, żołądkach i jelitach. Poziomy siewstwa wirusa u gołębi wahały się od około 630 do 2500 EID w wymazach z tchawicy i około 250 do 5000 EID z prób pobranych ze steku; jednak siewstwo wirusa wydawało się być niższe niż minimalna dawka zakaźna dla kurcząt, ponieważ żadne badania nie wykazały serokonwersji ani śmiertelności u kurcząt przebywających razem z zakażonymi gołębiami. W rzadkich przypadkach potwierdzano serokonwersję u niektórych gołębi kontaktowych.

Analiza wyników badań gołębi wolno żyjących, gołębi na targach żywych ptaków oraz doświadczalnie zakażonych LPAI i HPAI z lat 1944–2013 wykazała, że gołębie są biologicznie najdalej przesunięte na skali podatności i zdolności przenoszenia wirusa grypy (2). Ptaki te nie wykazują objawów klinicznych po zakażeniu wirusami HPAI, są nieefektywnymi propagatorami i przekaźnikami wirusa (zwłaszcza dla drobiu) i nie ułatwiają mutacji z LPAI na HPAI. Analiza wykonanych badań jednoznacznie wykazała, że gołębie nie miały znaczenia epidemiologicznego w przenoszeniu i rozprzestrzenianiu się HPAI (2).

Pierwsze trzy międzykontynentalne fale pandemii AIV (2005–2015) zostały spowodowane przez podklady 2.2 lub 2.3.2.1c wirusów H5N1 HPAI, a patogenność tych szczepów u gołębi została oceniona w kilku badaniach opisanych wcześniej (2). Czwarta fala była spowodowana przez wirusy HPAI kłady 2.3.4.4 H5Nx, kiedy nastąpiła znacząca zmiana w ekologii i epidemiologii wirusa AI. Postępujące dryft genetyczny i wielokrotna reasortacja z innymi wirusami grypy A ptaków dzikich spowodowały powstanie kładów 2.3.4.4 HPAI H5Nx z różnymi typami neuraminidazy, np. H5N6,

H5N2 i H5N8. Ponadto wirusy te rozprzestrzeniły się na regiony wcześniej niedotknięte, co sugerowało, że alternatywne populacje gospodarzy korzystające z różnych tras migracji działały jako nosiciele. Po raz pierwszy wirus dotarł do kontynentu północnoamerykańskiego i południowego krańca kontynentu afrykańskiego. Wiele gatunków dzikich ptaków i drobiu zostało dotkniętych i padło po zakażeniu wirusem HPAI kładu 2.3.4.4 H5N8, wśród których były setki dzikich gołębi i innych gatunków z rodzaju *Columba*, zwykle w dotkniętych infekcją fermach drobiu.

Czy wirusy kładu 2.3.4.4 H5Nx ewoluowały w takim stopniu, że status ryzyka u gołębi zmienił się po 2015 r.? Aby to ocenić, przeprowadzono nową serię badań gołębi w Korei, Chinach, USA, Afryce Południowej i Belgii (3, 4, 5, 6, 7). Wyniki tych doświadczeń były podobne do przeprowadzonych przed 2015 r. Kurczęta zakażone drogą dospójówkową lub donosową standardową dawką 6 mln EID kładu 2.3.4.4 wirusów HPAI H5Nx siały duże ilości wirusa z tchawicy i kloaki po trzech dniach od zakażenia kontrolnego. Odwrotnie niż gołębie, które zakażone tymi samymi dawkami wirusów podanymi drogą donosową pozostały klinicznie zdrowe przez cały okres badania we wszystkich doświadczeniach, z wyjątkiem jednego ptaka z objawami neurologicznymi, i siały znacznie mniejszą liczbę wirusa. Przeciwciała wykryto u większości gołębi. Tylko jedno badanie wykazało udaną transmisję do kontaktowych gołębi, bez rozprzestrzeniania się na kurczęta trzymane wspólnie, po raz kolejny potwierdzając, że ilości wydalanego wirusa HPAI były poniżej minimalnego progu wymaganego do wywołania zakażenia u kurowatych. Upadki u wolno żyjących gołębi w ognisku choroby wywołanej przez wirus kładu 2.3.4.4 HPAI H5Nx były prawdopodobnie spowodowane ekspozycją ptaków na bardzo wysokie dawki wirusa w silnie zanieczyszczonym środowisku zakażonych ferm drobiarskich,

po raz kolejny podkreślając rolę bioasekuracji w gospodarstwie, która powinna uniemożliwiać dostęp dzikim ptakom do kurników, ponieważ każdy dziki ptak może być mechanicznym wektorem rozprzestrzeniającym wirus.

Podsumowując, można stwierdzić, że biologicznie rzecz ujmując, wieloletni status rządu gołębiowych, jako nieskutecznych propagatorów i siewców wirusów HPAI i LPAI, utrzymuje się nadal: gołębie nie mają znaczenia epidemiologicznego w utrzymywaniu się i rozprzestrzenianiu wirusa grypy ptaków.

Piśmiennictwo

1. Lee D.H., Criado M.F., Swayne D.E.: Pathobiological origins and evolutionary history of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2020 Jan 21. pii: a038679. doi: 10.1101/cshperspect.a038679.
2. Abolnik C. A.: Current review of avian influenza in pigeons and doves (*Columbidae*). *Vet. Microbiol.* 2014, **170**, 181-196.
3. Abolnik C., Stutchbury S., Hartman M.J.: Experimental infection of racing pigeons (*Columba livia domestica*) with highly pathogenic Clade 2.3.4.4 sub-group B H5N8 avian influenza virus. *Vet. Microbiol.* 2018, **227**, 127-132.
4. Bosco-Lauth A.M., Marlenee N.L., Hartwig A.E., Bowen R.A., Root J.J.: Shedding of clade 2.3.4.4 H5N8 and H5N2 highly pathogenic avian influenza viruses in peridomestic wild birds in the U.S. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019, **66**, 1301-1305.
5. Hemida M.G., Chu D., Abdelaziz A., Alnaeem A., Chan S.M.S., Peiris M.: Molecular characterisation of an avian influenza (H5N8) outbreak in backyard flocks in Al Ahsa, Eastern Saudi Arabia, 2017-2018. *Vet Rec Open.* 2019; 6(1):e000362. doi: 10.1136/vetreco-2019-000362.
6. Kwon J.H., Noh Y.K., Lee D.H., Yuk S.S., Erdene-Ochir T.O., Noh J.Y., Hong W.T., Jeong J.H., Jeong S, Gwon G.B., Song C.S., Nahm S.S.: Experimental infection with highly pathogenic H5N8 avian influenza viruses in the Mandarin duck (*Aix galericulata*) and domestic pigeon (*Columba livia domestica*). *Vet Microbiol.* 2017, **203**, 95-102.
7. Xiang B., Liang J., You R., Han L., Mei K., Chen L., Chen R., Zhang Y., Dai X., Gao P., Liao M., Xiao C., Ren T.: Pathogenicity and transmissibility of a highly pathogenic avian influenza virus H5N6 isolated from a domestic goose in Southern China. *Vet. Microbiol.* 2017, **212**, 16-21.