

Анализ на някои нововъзникващи биологични рискове в периода 2001-2013г., причинявани от вируси разпространяващи се по алиментарен и аерозолен път.

Гл. ас. д-р Чавдар Каменов Филипов, ФМФ при ЛТУ – София

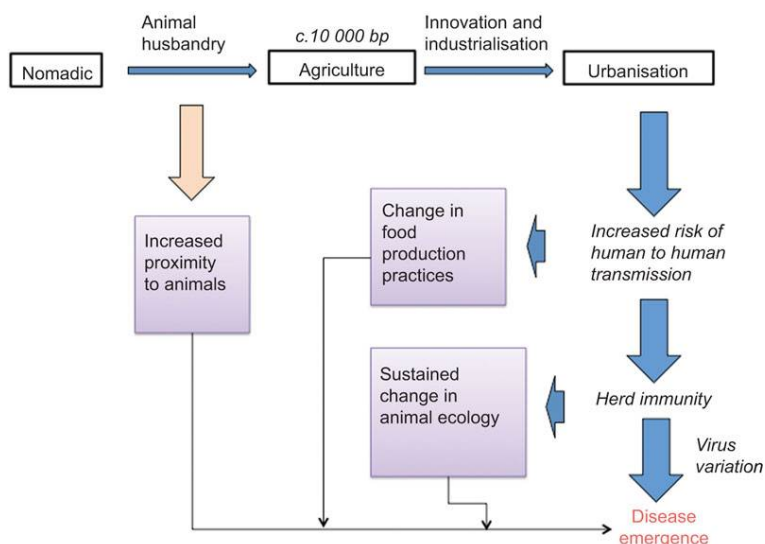
Резюме

Според определението дадено от ЕФСА, нововъзникващите/потенциални биологични рискове са рискове произтичащи от новоидентифицирани биологични агенти (паразити, вируси, бактерии и прони) или ново серологично или генетично изменени варианти на познати биологични агенти, на чието въздействие могат да бъдат изложени хора, животни и растения ((EFSA.2.2002). Нововъзникващите вирусни заболявания представляват реална заплаха за ветеринарната медицина и общественото здраве. Наблюденията от последните години сочат, че средно по един нов агент се появява всяка година и неговият произход е от животните. Нововъзникващите рискове нарастват, когато преднамерено или случайно настъпят промени в начина на отглеждане на животните, резки промени в екосистемите и водещи до нарушаване на баланса между патогена и обичайният гостоприемников вид. Един от най-важните движещи фактори във този процес е увеличената урбанизация, водеща до промени в начина на живот на хората, както и непрекъснато променящите се условия на интензификация при промишленото отглеждане на големи групи животни. Много от новопоявяващите се вирусни инфекциозни агенти са РНК съдържащи вируси, които имат способността за бърза мутация и селектиране на множество варианти на фона на промените в околната среда и наличието на висока концентрация от чувствителни гостоприемници. Този преглед има за задача да анализира някои нововъзникващи биологични рискове в периода 2001-2013г., причинявани от вируси и разпространяващи се по алиментарен или аерозолен път. Появата и разпространението на нови биологични рискове е трудно да се предвидими за това се създават математически модели и се използват методите на простраствената епидемиология. Освен това много следва да се направи в областта на създаването на подходящи схеми и адекватни планове за надзор на новопоявяващите се вирусни агенти, а при наличие на елементи на зоонозност да бъдат въввлечени както ветеринарните власти така и оговорните институции за публичното здраве. В прегледа се разглеждат новопоявилите се биологични рискове от коронавируси (SARS, MERS-CoV), Influenza A вируси (H5N1, H1N1, H7N7, H7N9), разпространили се в последните 20 години в световен мащаб и застрашаващи огромни популации от животни и хората и предвиждали епизоотии и епидемии сред хора, стопански и диви животни.

=====

Живеем в епоха на бързи промени в окръжаваща ни природната среда. Вирусите, съдържащи РНК в генома си могат бързо да се адаптират към тези условия, защото при вирусната репликация в засегнатите организми съществува висока степен на грешки при копирането на генома им от вирусната РНК-зависима РНК полимераза. Освен това при вирусите с естествено сегментиран геном генетичните промени могат да бъдат доста големи и силни и водещи до появата на нови генетични варианти (мутации, рекомбинации или реасортмент), факторите на околната среда (включително екологични, социални фактори, ниво на здравеопазване) също могат да играят важна роля при естествената еволюция на тези вируси (Фиг. 1).

Епидемиите не се ограничават само със засягане на хората. Свидетелство за това бяха редица неотдавна разразили се епизоотии по домашните животни (foot and mouth disease, classic swine fever and bluetongue). Животинските вируси могат да се предават и да инфектират хората при различни условия. Неотдавнашни примери за такива зоонотни инфекции включват предаването от свине на хора на Influenza A вируса, щам H1N1, наречен „swine flu“ вирус или пък от птици на човек, предаването на птичия грип от щамове H5N1или H7N9, дали тласък за завишена световна загриженост относно появата на нова пандемична вълна на човешкия грип. От съществуващите над 1400 биологични рискове (патогени) повече от 50% имат за изтоник и произтичат от животните, което дава основание на OIE (World Health Organization) да определи, че „заболяванията при естествени условия се реализират чрез инфекции между гръбначните животни и човека“. Нещо повече, вирусите съдържащи РНК геном, представляват една трета от всички нововъзникващи инфекции.



Фиг. 1. Пътища за проява на нововъзникващи рискове и зоонозни инфекции с отчитане на условията на средата, екологичните и социалните фактори

1. Нововъзникващи биологични рискове, предивиквани от представители на Family Coronaviridae

1. Тежък остър респираторен синдром при човека - Severe Acute Respiratory Syndrome (SARSCoV)

В последните 20 години възникна огромен интерес към определен брой вирусни инфекции, предивикващи неочаквани заболявания и епидемии сред хората, дивите и домашните животни. 75% от всички нови инфекциозни заболявания са свързани с животните. Нарастващото поголовие селскостопански животни и най-вече на едър рогат добитък и свине в световен мащаб е причина за възникването на нови ветеринарни епидемии в развиващите се страни, което е заплаха за тяхната хранителна безопасност. Според експерти през последните години за борба с епидемиите от т. нар. атипична пневмония или ТОРС (Severe Acute Respiratory Syndrome, или тежък остър респираторен синдром – ТОРС) са били похарчени милиарди долари. Проблемът е, че 61 процента от тях могат да се предават на хората. ТОРС е установен за първи път през 2003г. в Китай. Коронавирусите са голямо семейство вируси, разпространяващи се по въздушно-капков и алиментарен път, което включва представители от обикновената настинка (common cold) до SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome, или тежък остър респираторен синдром – ТОРС) (Фиг.2). През 2002 г. ТОРС се превърна в световна епидемия, като се разпространи от Хонконг в още в 32 страни по целия свят, засегна 8.099 души като 744 от тях умряха. Изследванията показват, че епидемията не е резултат от един единствен изолиран случай на преминаване на междувидовата бариера. Известни са още 11 случая на инфектирани, независимо един от друг хора в провинция Гуангдонг през ноември 2002г. Това е впечатляващо, защото показва, че вирусът е преминал от цибетките (Хималайската палмова цибетка тропическо месоядно животно от вида на котките, използвани за храна в Китай) на човека повече от един път (Фиг.3).



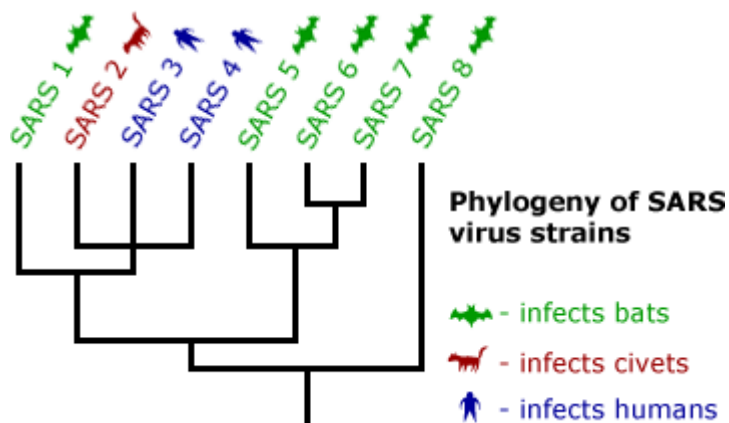
Фиг. 3 Азиатска Хималайска палмова цибетка

Цибетките, продавани по пазарите са ценени от китайците най-вече заради месото си. Те са заподозрени като вектор и природен резервоар за разпространение на SARS по човека. Експериментално с вируса за заразявани порове и домашни котки. Те развиват симптоми на заболяване и могат да заразяват други животни от същия вид. Тези данни показват, **че резервоарът на този вирус може би обхваща по-голям кръг диви и екзотични животни.**

Еволюция и реконструкция на вируса, причинител на Тежкия Респираторен коронавирусен синдром – ТОРС (SARS CoV)

Вирусите еволюират бързо и постоянно, променяйки генетичните си линии, разцепвайки се и формирайки нови генетични линии. По време на еволюцията настъпват малки промени в секвенциите на техните геноми. Основавайки се на тези генетични разлики учените могат да реконструират еволюционните връзки между различните вирусни щамове, създавайки т.н. еволюционни филогенетични дървета, разкривайки кой щам от кой и в каква последователност е произлязъл еволюирал.

Сравняван е генетичен материал (RNA) на SARS CoV получен от различни източници: заразени хора, заразени циветки и заразени прилепи. Изолирана е РНК на вируса и след това тя е копирана и превръщана в ДНК. След това тя секвенирана е и резултатите от секвентния анализ са използвани за съставянето на секвентни филогенетични или т.н. еволюционни дървета (Фиг.4).



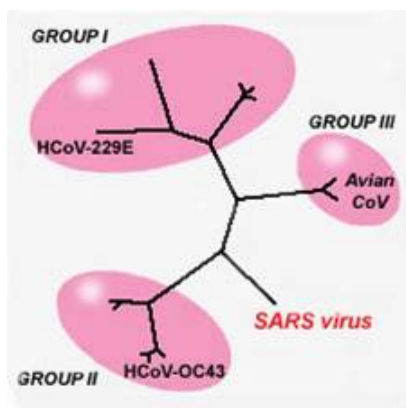
Фиг4. Секвентно филогенетично дърво на SARS вируси, изолирани от различни гостоприемници

Секвентното дърво показва, че SARS вирусите, изолирани от хора и циветки са генетично сходни и нещо, което е важно и двата вируса във филогенетичното дърво те са разположени в „гнездо“ с генетични клонове на други изолати на коронавируси, изолирани прилепи, което е указание, че **генетичният предполагаем предшественик (Putative Common Ancestor)**

на вирусните щамове, изолирани от прилепи и хора следва да е прилепов вирус!

Основавайки се на това доказателство учените съставиха възможен път на предаване на инфекцията: Инфектираните прилепи и неинфектираните цветки са влезли в контакт на пазарите, като вирусът е бил предаден към цветките и след това е мултиплициран и е еволюирал в организма им (или други животни), преди да засегне хората.

Хиляди животни са избити като мярка за превенция на болестта. Година по-късно епидемията беше овладяна, макар и вирусът да не е изчезнал напълно. Борбата с атипичната пневмония през 2003 г. е струвала между 50 и 100 млрд. долара. Причинителят е CoV (Фиг. 2), който може да заразява като белия дроб, така и стомашно-чревния тракт, черния дроб и бъбреците. В белите дробове се предизвиква непропорционално хипертрофиране на алвеоларния епител, възпалителни инфилтрати, едем, дихателен дистрес синдром (ADRS). Вирусът се предава от човек на човек по въздушно-капчет път, при близък контакт или алиментарно. Клинично пациентите със ТОРС развиват атипична пневмония с бърз развой, висока температура, диспнея и лимфопения. Приблизително 40-70% от пациентите развиват и диария като съпътстваща пневмонията клинична картина. Възрастта на болните е определящ фактор за развоя и изхода на болестта, като наблюденията сочат, че не е регистриран нито един случай на пациенти под 12 г. възраст, факт необяснен и до момента от науката. **Бързите метки от страна на СЗО, както и недостатъчно ефективният начин на предаване на заразата по въздушно-капчет път дадоха възможност за успешно овладяване на епидемията чрез завишаване на изискванията за лична и обществена хигиена, ефективен граничен контрол и прекъсване на веригата от заразяване по хранителната верига.**



Фиг.2. Генетични връзки на вирус SARSov с останалите коронавируси

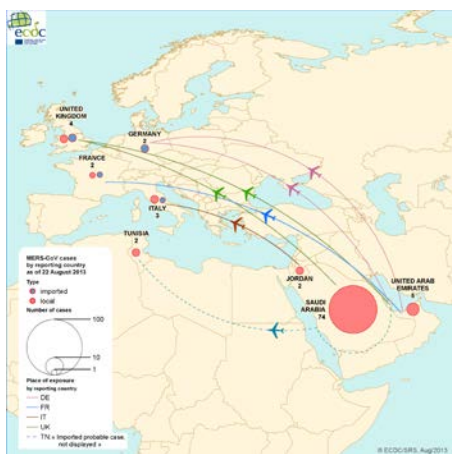
2. Близкоизточен респираторен синдром причиняван от нов коронавирус (MERS CoV)

През април 2012 г. в Саудитска Арабия бе хоспитализиран мъж с признаци на тежка респираторна недостатъчност в следствие от вирусна пневмония. Изолиран е причинителят на това заболяване и е доказано, че става въпрос за нов коронавирус. Новата нозологична единица бе наречена Близкоизточен Коронавирусен Респираторен Синдром (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus - MERS-CoV)

MERS-CoV е бета-коронавирус, различен от коронавирусаите причиняващи леки респираторни инфекции при хората. Този инфекциозен агент е различен и от причинителя на тежкия акутен респираторен синдром (SARS CoV). И двата вируса обаче са подобни на някои вируси изолирани от прилепи.

До 30.07.2013 г. заболяваха 91 човека от които 46 са умрели. Заболяването е най-разпространено в Саудитска Арабия: 71 заболели и 39 смъртни случая, следват: Обединените арабски емирства 6(1); Великобритания 3(2); Италия 3(0); Йордания 2(2); Франция 2(1); Катар 2(1) и Тунис 2(0). *От април 2012г. до 30 август 2013 г. в световен мащаб е доказано заразяването на 104 души от които 49 са с летален изход, което се равнява на почти 50 % леталитет.* Най-много заболели има в Саудитска Арабия 82 със съответно 41 смъртни случая, следвани от Обединените Арабски Емирства 6(2), Катар 4(1), Великобритания 3(20), Франция 2(1), Италия 3(0), Йордания 2(2), и Тунис 2(0). Последният за сега смъртен случай е на 55 годишен мъж с бъбречна недостатъчност от Саудитска Арабия, починал като усложнение след инфекция с MERS.

Европейският център за профилактика и контрол на болестите в Стокхолм счита (ECDC), че в Близкият изток се развива епидемичен процес с много слаба интензивност. Съществува риск за хората пътуващи в този регион. Много внимателно трябва да се проучват всички случаи, особено при хора връщащи се от религиозните празници Умбах и Хадж (Фиг.5). Всички летални случаи са при имunosупресирани пациенти. *При лица с нормално функционираща имунна система заболяването протича със стомашно чревно разстройство или субклинично.*



Фиг. 5. Пътища за разпространение на MERS-CoV към 22 August 2013 (n=94)

II. Нововъзникващи биологични рискове, предизвиквани от представители на Family Orthomyxoviridae

3. Еволюция на Инфлуенца А вирусите и циркулация на генетичните линии на високопатогенната птича инфлуенца от генотип N5N1

Въпреки огромният напредък на науката в изучаването на причинителите на грипа, понастоящем той продължава да бъде едно от най-масово разпространените заболявания, ежегодно нанасящо огромни щети върху здравето и икономиката на човечеството. В последните години с разработването и прилагането на ветеринарномедицински и хуманни ваксини бе постигнат значителен успех по отношение на профилактиката от масовото заразяване с инфлуенца. Ежегодните изменения в антигенната характеристика на вируса, обусловени от биологично силно изменчивата му природа, както и внезапното преминаване на нови щамове в човешката популация рез преодоляване на междувидовата бариера, поставя сериозни ограничения пред тяхната ефективност. В последните години се доказва, че и различни птичи инфлуенчни вируси могат да инфектират човека. Тези вируси включват както субтип H5 (H5N1), така и субтип H7 (H7N2, H7N3, H7N7), и субтип H9 (H9N2), а така също още и субтип H10 (H10N7). Разработването на дадена ваксина в промишлен мащаб технологично отнема до 6 месеца, които в кризисна ситуация биха били твърде дълъг период от време. Не на последно място ваксините не успяват и да преодолеят проблема с превенцията при лица с компрометирана имунна система, за които грипната е една от най-често срещаните суперинфекции. След 1997 г. когато за първи път вирусът на високопатогенната птича инфлуенца от генотип H5N1 започна своята циркулация в Югоизточна Азия и освен опустошителни епизоотии сред птиците от кокошевия тип той показва своята силна патогенност и за хора. Заразяването става по орално-фекален път и макар до сега да са заразявани над 650 човека все още все още няма данни за неговото разпространение по обичайния начин на разпространение на човешките грипни вируси – аерозолният. ***Това е една от***

причините до този момент този щам или неговите генетични отродия да не са станали причина за появата на нова пандемия сред човешката популация. Ако се проследи хронологията на грипните пандемии през 20-и век то би могло да се спекулира с факта, че такива пандемии са се появявали през приблизителен интервал от 40 години, и че „вече е време за нова пандемична вълна“ (Фиг.6). По време на циркулацията си в организмите на животните и човека Инфлуенца А вирусите еволюират, като се променят чрез слаби генетични мутации (drifts). Така те се групират в генетични подтипове, наречени „клайдове“ въз основа на тяхната по-голяма или по-малка генетична близост и родство. Принципно, щом малките мутации във вирусните геномни секвенции се натрупат, те водят до промени в антигенните характеристики на Инфлуенца А вирусите. Понякога те могат да се реасортират с други инфлуенчни вируси, в резултат на което настъпват по-големи генетични изменения (shifts). На фиг. 5 са показани еволюционните връзки между грипните вируси. Следва да се отбележи, **че при еволюцията си почти всички нови пандемични шамове при хора и епидемични при свине са се формирали с участието на птичите грипни вируси.**



Фиг.6. Еволюция, циркулация и разпространение на грипните вируси

Гостоприемници

Птичите Инфлуенца А вируси могат да инфектират различни видове домашни и диви птици. Клиничната манифестация на инфекцията при птиците варира от асимптоматични инфекции до остри тежки заболявания с висока смъртност.

Водолюбиви птици

Патиците, гъските и другите представители на водолюбивите птици, както и чайките се считат за естествен природен резервоар на птичите грипни вируси (Webster 1992). Водоплаващите птици не развиват заболяване, при инфекция с птичите грипни вируси. Субтип H5N1 обаче понякога е вирулентен за някои видове диви птици (лебеди, гъски и патици).

Домашни птици

Домашните птици – пилета, кокошки и пуйки са много чувствителни на Инфлуенца А вирусите, предивиквана от HPAI и често инфекцията завършва с фатален край. През последните няколко години бяха регистрирани множество огнища на високо патогенна птича инфлуенца по домашните птици, предивикани от H5N1 вирус. *Учените в Азия доказаха, че безсимптомно инфектирани домашни птици са разсейвали с фекалиите си H5N1 вирус в периода 2003-2004, адаптирайки го към домашните птици.*

Други видове птици

Инфекцията от H5N1 също бе регистрирана и при други птици. През 2004 г. при тайлански орли, внесени нелегално в Белгия. През 2010 г. инфекция с HPAI H5N1 в България за обикновения мишелов (*Buteo Buteo*) бе фатална.

Високопатогенната птича инфлуенца, предизвиквана от щам H5N1 за първи път бе установена и се разпространи широко през 1997 г. предививайки огнища на заболяване по домашните птици в Хон Конг с последващо разпространение и засягане на човешката популация. По време на тази епизоотия бяха установени 18 случая на заболяване при хора и 6 пациенти са починали. Епизоотията беше спряна едва, когато всички домашни птици, населяващи тази територия бяха унищожени. Предаване на вируса от човек на човек не бе доказано. Предшественикът на този H5N1 вирус бе установен в провинция Гуандунг, Китай през 1996 г., когато той предивика смърт при болели гъски (Webster, 2006). Безпрецедентната панзоотия от високопатогенната птича Инфлуенца А с щам H5N1 започна през 2003 година и обхвана домашни и диви птици на 3 континента, достигайки през Азия и Европа до Сенегал в Западна Африка. H5N1 щамове, които сега предивикват епизоотии по птиците в Азия се различават от щам H5N1, изолиран от хора в Хон Конг, през 1997 г. Независимо от разработването на ваксина и прилагането на ваксинационна програма в Китай при птиците, епизоотичните взривове с щам H5N1 продължиха да се проявяват в тази страна и след този период. Вирусологичният надзор на пазарите за птици в периода на масовото приложение на ваксината показва, че H5N1 се изменя и се появява негов вариант (сублиния Fujian [FJ]-like), който стана доминиращ в Китай през 2005 г. Вирусите от този вариант принадлежат към генотип 2 на HPAI щам H5N1. *Така през лятото на 2005 г. започна експанзията и географското разпространение на този щам от генотип 2 извън Азия.* Причините поради които, той се разпространи трансконтинентално и панзоотично се дължат на два основни фактора:

- Чрез легалната и нелегална търговия с птици.
- Чрез естествената миграция на дивите прелетни птици, които са основен резервоар на Инфлуенца А вирусите в природата. Те имат естествена резистентност към заболяване от тези вируси или прекарват болестта със слабо изразена клиника и могат да станат вектори за неговото

разпространение на далечни разстояния, пренасяйки вируса от една инфектирана към друга незасегната до момента територия по време на естествената сезонна миграция, закрепил се в процеса на еволюцията на видовете (Фиг 7).

Следвайки еволюцията на високопатогенната птича инфлуенца в Европа, предизвикана от щама H5N1, екологичната циркулация и миграцията на вируса, разпространил се през есента и зимата на 2006 г. могат да се направят следните следните заключения:

- 1. Домашните патици и гъски са основен резервоар и вектор за пренасянето на вируса от дивите прелетни птици към домашните кокошеви видове. До 2002 г. патиците са излъчвали H5N1 вируса главно с фекалиите.*
- 2. По-новите изследвания показаха, че патиците сега могат да излъчват вируса и чрез респираторния си тракт, **което показва еволюция на вируса**, която пряко влияе върху механизмите на предаването.*
- 3. Свободно отглежданите патици са важен фактор за перзистенцията на HPAI вирус H5N1 във Виетнам, Камбоджа, Мианмар, Тайланд и други страни от региона на Индокитай и пренасянето на заразата към домашните птици от т.н. „заден двор“ и пазарите за живи птици. Безконтролното им придвижване по територията на дадена страна също е фактор, обуславящ широкото разпространение и неконтролируемия ход на епизоотичните взривове от високопатогенна Инфлуенца А.*

Например оценката на риска от инфекция с H5N1 сред домашните птици в Хонг Конг през 2002 г. показва, че пазарите за живи птици са играли ролята на главен източник на зараза за птиците ферми през този период.

- 4. В повечето европейски страни, където бе установен щама H5N1, вирусът бе асоцииран с пренасянето му от мигриращите диви птици, които идват от Сибир (пре – Урал, Казахстан и Монголия) и преминават по миграционните пътища около Черноморския басейн на път за Северна Африка (фиг.6).*
- 5. В Африка HPAI H5N1, веднаж пренесен с прелетните птици се разпространява главно чрез търговията и пазарите за птици, Ролята на дивите птици като постоянен резервоар на вируса също е отчетена.*
- 6. Проучванията показват още, че понякога вирусът на HPAI H5N1 може да се възвърне от домашните към дивите птици (**смяна посоката на предаване**). Така в Англия през януари 2007 г. чрез внос на заразено с H5N1 месо от пуйки, добивано в Унгария, стана причина за заразяването на две крупни птицеферми.*



Фиг.7. Основни миграционни пътища пресичащи басейна на Черно море.

Генетични проучвания

Изолатите от Югоизточна Азия на H5N1 през 2006 г. показва, че изолираният в Югоизточен Китай H5N1 генотип на вируса се е разпространил чрез домашните и дивите птици, притежаващ **продължителна ендемичност за цяла Югоизточна Азия** и след това е пренесен в различни региони на Света с помощтта на домашните и дивите мигриращи птици. Генетично и антигенно различни подклонове се появиха в различни географски региони на Света, показващи последваща по-кратка или по-продължителна **регионална ендемичност на вируса** (в Африка-Египет, Чад, Нигерия, Мавритания и др., в Азия – Китай, Хон Конг, Виетнам, Мианмар, Тайланд, Индонезия и др.).

H5 суптипове на Инфлуенца А вирусите

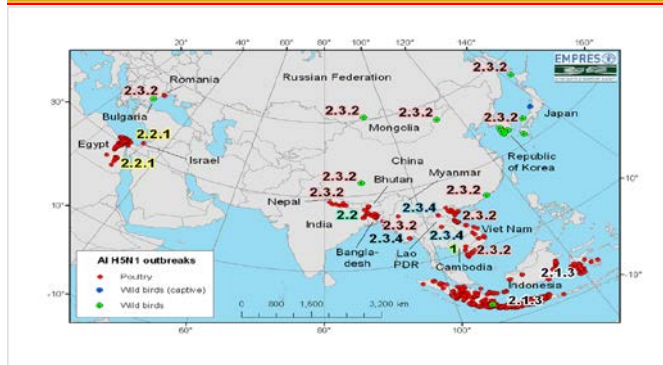
H5 субтиповете се срещат, както при HPAI, така и при LPAI щамове. Щамове Influenza A H5N1 циркулират между птиците по целия свят и са отговорни за неотдавнашната панзоотия (2005-2006 г.) по домашните и други птици в Азия, Европа, Близкият Изток и Африка.

Генетичната характеристика на H5N1 щамове въввлечени в тази панзоотия се демонстрираха от 2 различни филогенетични клона (клайдове) 1 и 2 (Webster, 2006)

- **Clade 1** вирусите в началото циркулират основно в Камбоджа, Тайланд и Виетнам.
- **Clade 2.1** вирусите в началото циркулират основно в Индонезия.
- **Clade 2.2** вирусите циркулират и имат широко географско разпространение в над 60 страни в Азия, Близкият изток, Европа и Африка.

За последните години бяха установени 6 различни подклайда на клайд 2, като 3 от тях са непосредствено отговорни за случаите на установяване на инфекция от птичия НРАІ при хора (фиг.8).

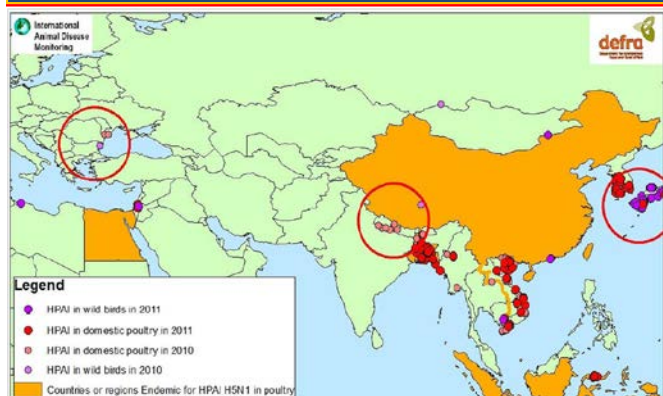
Генетични отродия на високопатогенния щам на птичия грипен вирус H5N1, циркулиращи в Азия, Европа и Африка



Фиг.8. Разпространение на генетичните подтипове на НРАІ щам H5N1 през 2010 г.

Clade 2.3 вирусите са генетично различни и до 2010 г. циркулираха само в Азия. Вирусите от този клайд бяха патогенни за хора в Китай, Лаос, Мианмар, и Виетнам. *За първи път през 2010 г. клайд 2.3.2 прояви трансконтинентална миграция и навлезе в Европа.* В средата на март 2010 г. в окръг Тулча, Румъния бяха регистрирани две огнища на НРАІ Influenza A H5N1 при птици от т.н. „задан двор“. На 31 март 2010 г, НРАІ Influenza A H5N1 бе изолиран от обикновен мишелов в България. Двата izolata имаха 97.3% генетично родство помежду си и пренадлежаха към клайд 2.3.2. на H5N1 и заедно с генетично близкият им НРАІ H5N1 щам, изолиран на 28 февруари 2010 г. в Непал показват първото навлизане в Европа на този клайд на птичата инфлуенца. Друга дестинация на тази миграция бе установяването му по същото време и в Япония и Тува (Монголия) (фиг.9).

Епидемична ситуация през 2010-11 г. с НРАІ Инфлуенца А щам H5N1



Фиг.9. Разпространение на НРАІ H5N1 клайд 2.3.2. през 2010/11 г.

Неотдавна едно разклонение на клайд 2.3.2. на HPAI H5N1 вируса, означен като clade 2.3.2.1 еволюира от генетична линия 2.3.2 H5N1 HPAI вирусите, циркулиращи сред птиците в Югоизточна Азия от 2005 г. Този клайд се разпространи бързо и стана доминантен над предишно разпространените и циркулиращи клайдове в редица страни от региона. Той обаче не се счита за "нов", защото е еволюирал генетично от clade 2.3.2. и за това се означава като клайд 2.3.2.1. За този подклайд се спекулираше в официално съобщение на ФАО през ранната есен на 2011 г., че през зимния сезон 2011/12 ще достигне Балканите и България. За съжаление прогнозите не се оправдаха и основателно. Това вероятно се дължи на факта, че глобалната миграция на прелетните водоплаващи птици в този период е обратна – от север – на юг (фиг.10). По данни на ФАО от юли 2008 г., патогенността на H5N1 щама при птиците във Виетнам е нарастнал неимоверно много, което се доказва чрез установяването на тежки инфекции на респираторния тракт на патиците и нарастване на титъра на вируса, излъчван през клоаката.



Фиг. 10. Миграционни потоци на дивите прелетни птици и трансконтинентално разпространение на Инфлуенца А вирусите от Югоизточна Азия до Европа, Африка и Близкия Изток

Тези промени са последвани от въвличането на генетични клайдове от типове 2.3.2 и 2.3.4, вероятно импортирани от Китай, тъй като до този момент доминиращ клайд за делтата на река Меконг е бил клайд 1 на HPAI H5N1 вируса от 2004 г. **За сега няма доказателства, че клайдът 2.3.2.1. на HPAI вирус, щам H5N1, който е произлязъл от клайд 2.3.2. да е по-вирулентен или по-патогенен за хората.** До сега са регистрирани 3 случая на инфекции при хора с този клайд 2.3.2.1 на H5N1 на HPAI вируса и няма индикации, вирусите от този клайд да представляват по-голяма заплаха за човешкото здраве, отколкото останалите H5N1 вируси (т.е. генетичните промени в него са все още много слаби). Резонен остава въпроса, кога все пак той би могъл да достигне нашите географски ширини? Това може да се случи със следващия(и) миграционен цикъл(и) или по-късно, но знанията ни за

вископатогенните щамове на птичия грипен вирус показват по-скоро, че след период на известно циркулиране сред птиците, те, *вископатогенните щамове в края на краищата се превръщат в слабо патогенни, но в същото време еволюционно други, слабо патогенни вируси при циркулацията си сред водоплаващите дават тласък за нови шифтови или реасортментни промени към нови HPAI щамове.*

В последните години се доказва, че различни птичи инфлуенчни вируси могат да инфектират човека. Тези вируси включват както субтипа H5 (H5N1), така и субтип H7 (H7N2, H7N3, H7N7), и субтип H9 (H9N2), а така също още и субтип H10 (H10N7).

H7 и H9 субтипове Инфлуенца А вирусите

H7 съдържащите щамове са както HPAI, така и LPAI а щамовете H9 включват само LPAI щамове. H9N2 вируси бяха изолирани от различни видове птици в цяла Азия, Близкият Изток, Европа и Африка. Тези субтипове на инфлуенца А вирусите по птиците също могат да инфектират хора, макар и много рядко (H9N2).

Мутагенна активност и изменчивост на птиците Инфлуенца А вируси

Птичите грипни вируси се определят като вископатогенни (HPAI), ако имат мотив от повтарящи се основни (базични) аминокиселини в сайта на разцепване на HA (arginine - R или lysine - K). *Това на практика означава, че HPAI вирусите могат да се реплицират във всеки орган на тялото на птицата, защото HA може да бъде активиран от ензимите на клетките на всеки орган.*

LPAI вируси могат да се реплицират само в тъкани, които съдържат трипсин или трипсино-подобни ензими, като стомашно-чревният или респираторният тракт. *Това обяснява защо изолирането на тези вируси от червата е по-успешно, отколкото от клоакални или назофарингеални тампон-проби.*

Учените считат, че няколко различни механизми са отговорни за мутацията от LPAI към HPAI вирус, като факторите, които я предизвикват са слабо известни. В някои случаи мутацията става бързо след интродуцирането на инфлуенчен вирус от дива птица в стадото. В други случаи се установява, че LPAI вирус е циркулирал сред птиците месеци преди да мутира. Такава продължителна и безсимптомна циркулация на Инфлуенца А вирусите е характерна при водоплаващите птици. *За това не е възможно да се предскаже дали и кога мутацията ще се случи. Резонно е обаче да се направи извода, че колкото по-широка е циркулацията на LPAI в стадото, толкова по-голям е шансът тя да се осъществи.*

Грипните вируси се променят по два различни начина:

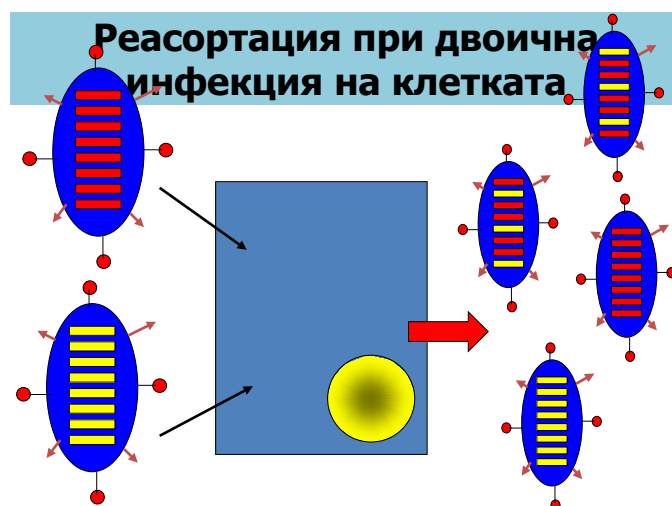
- Чрез „**антигенен дрифт**“, при който се откриват малки промени на вирусите. Те стават непрекъснато при тяхната циркулация между индивидите, които

заразяват. По този начин вирусите „избягват“ от неутрализиращите антитела, образувани при предишна инфекция с инфлуенчни вируси.

- Чрез „**антигенен шифт**“ се извършват големи промени на Инфлуенца А вирусите, които имат за резултат промяна на хемаглутинините и на невраминидазните протеини или на техните комбинации като се достига до нови такива, които не са се срещали преди това. Това може да стане и при суперинфекция на два вируса в един индивид и полученият антигенен шифт да доведе до появата на нов субтип на Инфлуенца А вируса чрез реасортмент.

Инфлуенца А вирусите се променят постоянно чрез антигенния дрифт, а по-големите оромени, ставащи чрез антигенния шифт се случват от време на време или случайно. Инфлуенца В вирусите се променят само чрез постепенен процес на антигенен дрифт.

Сегментният реасортмент се случва при инфекция едновременно с два различни инфлуенчни вируса. *Сегментният реасортмент и антигенният шифт водят винаги до големи антигенни промени в НА и/или НА и появата на Инфлуенца А вируси с нови антигенни свойства.* По този начин са еволюирали грипните вируси и се е стигнало до появата на грипни пандемии при хората през 1918г., 1957г., 1968г., 1977г. с участието на птичи и човешки грипни вируси (фиг. 11). През 2009 г появата на пандемичния грипен вирус N1N1 (щам Калифорния) най-вроятно бе резултат от смесването на гени от транскриптазо-полимеразния комплекс (PB2, PB1 и PA), на птичи, човешки и свинки грипни вируси. Неоснователно, обаче той първоначално бе наречен „свински“ грип.



Фиг. 11. Реасортация при двоична инфекция с Инфлуенца А вируси

Краткотрайният имунитет при грипните вируси е резултат от непрекъснатата еволюция под натиска на образуващите се в организма антитела. Този „натиск“ води до постоянното изменение на вирусите и стои в основата на антигенния дрифт. Шифтовите промени и големите генетични „скокове“ в еволюцията на инфлуенца А вирусите, пък водят до по-лесното преодоляване на **междувидовата бариера**. Пример инфектирането на хора с щама H5N1 на HPAI след появата му след 1997 г. в Югоизточна Азия и до днес.

1. Патогенност и вирулентност на птичите Инфлуенца А вируси

Инфекциите с птичи грип, както бе споменато по-горе се класифицират като **високопатогенна птича инфлуенца** (highly pathogenic avian influenza - HPAI) и **слабо патогенна птича инфлуенца** (low-pathogenic avian influenza - LPAI). Според Кодекса за сухоземните животни на Световната организация по Здравеопазване на животните O.I.E., "Всяка инфекция при птици предивиквана от Инфлуенца А вирус от субтиповете H5 и H7, притежаващи интравенозен патогенен индекс (intravenous pathogenicity index - IVPI) по-висок от 1.2 (или алтернативно да предивикват най-малко 75% смъртност при 4-8 седмични пилета инфектирани интравенозно.)" подлежат на задължително обявяване от страните членки на OIE. H5 и H7 вирусите, които имат IVPI по-нисък от 1.2 или предивикват по-малко от 75% смъртност при интравенозно инокулиране следва да бъдат подложени на секвентен анализ, за да се определи дали имат повтарящи се основни (базични) аминокиселини в сайта на разцепването на хемаглутининовата молекула (фиг. 12). Ако аминокиселинният мотив е подобен на другите HPAI изолати, то изследваният изолат се счита за HPAI независимо, че за инокулираните пилета той е бил с по-ниска патогенност. **За това LPAI са всички influenza A вируси от субтипове H5 и H7, които не покриват критериите за HPAI вируси.**

В природата повечето птичи грипни вируси са LPAI и обикновено се асоциират със слабо проявена инфлуенца при птици от кокошевия тип. Те обаче са напълно авирулентни за патици. Веднага следва да се отбележи, че LPAI вируси имат потенциала да еволюират до HPAI и това е добре документирано в литературата. **Някои от птичите инфлуенца А вируси, принадлежащи към субтипове H5 и H7, като H5N1, H7N7 и H7N3 не винаги следва да се асоциират с HPAI за птици.** **Вирулентността е щамов, фенотипов белег** – за това има H5N1 вируси, които са HPAI за кокошевия вид и в същото време и H5N1, които са слабо патогенни (LPAI) за тях. Изолираният у нас от патици мюлари слабо патогенен птичи грипен вирус H5N2 в края на 2011 г. бе със слабо патогенна характеристика и секвентен анализ, показващ сходство с щам A/goose/Romania/3511-3550/10 (H5N3), който също е слабо патогенен (LPAI). Този щам бе авирулентен за патиците-мюлари (Петкова, 2012). В генетично отношение те бяха хомоложни в сайта на разцепване на невраминидазата на 98.6%. В същото време в Южна Африка, в провинция Трансвал Инфлуенца А вирус с антигенна характеристика H5N2 бе силно патогенен (HPAI) за щрауси и дори за хора и циркулира там още от 2004 г.!

Тук е мястото да се подчертае още веднъж, че при птичите инфлуенчни вируси не съществува знак за равенство между патогенност и вирулентност !!!

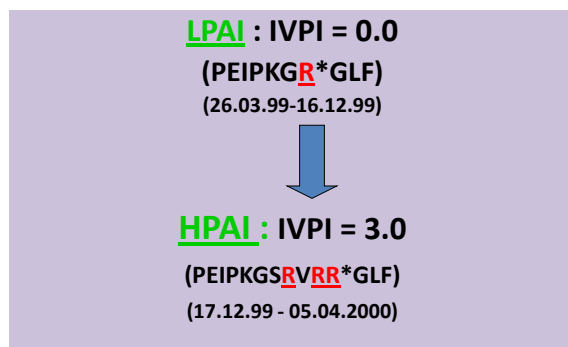
Вирулентността е щамов, фенотипов белег, докато патогенността винаги е генетично детерминирана – съществуват Инфлуенца А вируси от щам H5N1, които са високо патогенни (HPAI) за кокошевия вид и в същото време и H5N1, които са слабо патогенни (LPAI) за тях. Счита се, че LPAI вируси циркулират сред птиците

месеци преди да мутират. За това не е възможно да се предскаже дали и кога мутацията ще се случи. Резонно е обаче да се направи извода, че колкото по-широка е циркулацията на LPAI в стадото, толкова по-голям е шансът тя да се случи. По бързо, дори скокообразно това може да се случи, когато Инфлуенца А вируса преминава от неговия естествен гостоприемник (дивите птици) към кокошевите видове. За това LPAI с H5, H7 и H9 антигенна характеристика на HA се следят особено зорко и третираат особено в нормативната база на ЕС (Директива 94/2005).

Специално H5 и H7 LPAI вирусите имат потенциала спонтанно да се превръщат в HPAI с което да станат причина за избухването на епизоотии със значителни щети за националното стопанство и човешкото здраве (евентуално и поява на нов пандемичен вирус).

LPAI от субтпове H5 и H7 могат да мутират в HPAI при продължителна циркулация в хомогенно стадо птици.

пример - епизоотията от H7N1 в Италия през 1999 г.



Фиг. 12. Генетични промени в сайта на разцепване на хемаглутинина на Инфлуенца А вируса и промени в мотива с повтарящи се базични (основни) аминокиселини

Надзорът на национално равнище при дивите и другите домашни птици следва да се базира на оценката на риска от проникване на Инфлуенца А вируси с висока патогенност, но не бива да се изпускат и стадата от полупромишлено отглежданите патици-мюлари. Домашно и промишлено отглежданите водоплаващи, в т.ч. и патиците за угояване са естествени носители на различни вируси на птичата инфлуенца, обикновено с ниска патогенна характеристика (LPAI). Резултатите у нас показват, че при активния надзор при патици-мюлари за 3 години бяха изолирани над 180 вируса с ниска патогенна характеристика (LPAI) от субтипове H3, H4, H5, H6, H8, H10 и H11. При естествени условия и в резултат на генетичните мутации и реасортации между вирусите с участието на H5, H7 или H9 съдържащи инфлуенчни вируси могат да се очакват внезапни мутации и антигенни шифтове на хемаглутинина и множество комбинации на невраминидазата или на реасортанти при двоичната инфекция на един индивид с два или повече различни грипни вируси. Ето защо следва да се обърне особено внимание за актуализиране на

плана на Националната програма за надзор на птичия грип, на осигуреността с диагностикуми и по-пълното използване на капацитета на двете диагностични звена в гр. София и гр. Варна. Редовното участие в организирания от Референтната на ЕС лаборатория тестове за пригодност и не на последно място участието на сътрудниците от двете лаборатории в ежегодните срещи на НРЛ на страните членки на ЕС следва да стане задължително.

2. Пандемичен грипен „свиски“ вирус, щам H1N1 и възможност от поява на нова грипна пандемия през 2009 г.

През март 2009 г. избухна грипна епидемия причинена от нов щам на грипния вирус H1N1. Първоначално огнища на заболяването бяха локализирани в три области на Мексико, но много скоро след това те бяха установени в САЩ и Канада. След откриването на новия щам в Съединените щати, неговото наличие бързо е потвърдено в множество страни на няколко континента. До момента има над 1600 предполагаеми случая. Новият щам е получен вероятно чрез реасортация като в полимеразния ген PA са установени секвенции от части на човешкия инфлуенцавирус тип А (подтип H1N1) причинил през 1918 г. грипна пандемия (испански грип), части от два или три щам на вируса на инфлуенцата по свинете - SIV (подтипове H1N2, H3N1, H3N2), както и на птичия грип. Щамът Калифорния N1N1 най-вероятно е резултат от смесването на гени от транскриптазо-полимеразния комплекс (PB2, PB1 и PA), на птичи, човешки и свински грипни вируси в организма на свине. Неоснователно, обаче той първоначално бе наречен „свински“ грип. ^[33] През месец април Световната здравна организация и Центърът за контрол на заболяванията на САЩ (CDC)^[34] изразяват сериозно безпокойство, че възникналият нов щам на инфлуенцата може да причини заболяване предавано от човек на човек със значителна смъртност, която бързо да прерастне в грипна пандемия. На 25 април 2009 г. СЗО определя ситуацията като "международна опасност за общественото здраве" с липса на познания по отношение на "клинични особености, епидемиология, вирусология за регистрираните случаи".^[35] Правителствата на страни от цял свят също изразяват опасения за възникналите случаи на заболяването като ситуацията се наблюдава отблизо.

Преди възникването на настоящата епидемия зимата на 2008 – 2009г. в Северното полукълбо е имало сравнително лек сезон по отношение на грипните инфекции. В световен мащаб те обикновено причиняват 250000 - 500000 смъртни случая при хора, най-вече в напреднала възраст, при младите и хората с хронични заболявания.^[36] До 8 април 2009 г. Центърът за контрол на заболяванията на САЩ (CDC) съобщи за смъртта на 43 деца от сезонния грип, в сравнение с 68 през предходния грипен сезон.^[37] Това благоприятно развитие отчасти се дължи на по-добрите ваксини използвани за сезон 2008 – 2009г., които обикновено се изготвят от два щам на Инфлуенца А вируса (H1, H3), и един Инфлуенца В вирус. Подобриенето се дължи и на изпълнението на препоръките на СЗО да бъдат обхванати потенциално опасни за разпространението възрастови групи от хора, а именно тези на възраст 5 - 18 години ^{[38][39]}

Първият потвърден случай на болестта е бил на 2 април при болно момче в градчето Ла Глория в щата Веракруз в Мексико.^{[41][42]} От началото на март в градчето върлува епидемия от грип с респираторни смущения и засяга около 60% от населението му.^{[41][43]} Въпреки това в района няма регистриран случай на инфлуенца по свинете.^[41] В близост до Ла Глория се намира огромна свиневъдна ферма с годишен оборот от около 1 милион свине. Дълги години жителите му са обезпокоявани от ята мухи развъждащи се в торните лагуни от фермата.^[41] Според мексиканският институт за общественото здраве именно тези мухи в началото на април може да са били първичният вектор на вируса.^[44] Собственикът на свиневъдната ферма „Smithfield Foods“ заявява, че свинете му не са показвали клинични признаци на инфлуенца. Въпреки това обаче той се ангажира да прилага ваксинация на стадото с ваксина против инфлуенца и да провежда месечно изследване за наличието на вируса.^[45]

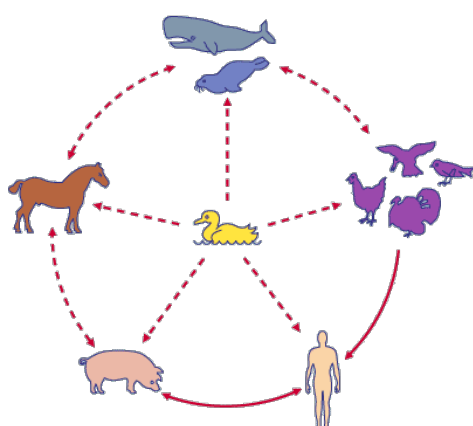
Първите случаи на заболяването възникват на 18 март 2009 г. в столицата Мексико сити, където прогресивно се увеличават болните с признаци на грип. Възникналите случаи били приети от мексиканските здравни власти като последен пик на заболяването за сезона. Такъв обикновено винаги се наблюдава и се причинява от вирусите на инфлуенцата, от тип В.^[46] Подобно развитие на положението продължило до 21 април,^{[47][48]} когато ЦКЗ с тревога оповестява за два случая на инфлуенца причинена от вирус предизвикващ инфлуенца при свинете.^[49] Първите два случая в САЩ, при които е изолиран и доказан свински вирус е при две деца от окръзите Сан Диего и Импириъл, на щата Калифорния. Установена е връзката на двата случая с тези в Мексико, където първият смъртен случай при пациент настъпва на 13 април. Смята се, че вирусът е мутирал в една жена от Оахака.^[50] Проби за изолация на вируса са изпратени в ЦКЗ на САЩ на 18 април.^[51] Резултатът за потвърждаването на новия щам е получен на 23 април 2009 г.

През март и април 2009 г. са били регистрирани около 1000 случаи на съмнение за свински грип при хора в Мексико и югозападната част на САЩ. Щамът изглежда необичайно смъртоносен, като в Мексико причинява 149 смъртни случая, повечето от които са в столицата Мексико сити.^[52] Регистрирани са и смъртни случаи в щатите Сан Луис Потоси, Идалго, Керетаро и щата Мексико, всички в централната част на Мексико.^[53] За някои от случаите, в Мексико и Съединените щати които са били потвърдени от Световната здравна организация се казва, че са причинени от неизвестен до момента щам на H1N1.^{[54][55]} Смъртните случаи в Мексико са на хора в активна възраст в рамките на 25 до 45 години. Този факт бе възможна предпоставка за възникване на пандемичен взрив.^{[56][57]} На 24 април 2009 г. новият щам на вируса бе потвърден при 16 от смъртните случаи. Последните актуални данни от 6 юли сочат, че по това време вече са били заразени 94 512 пациента и 429 от тях са починали.^[58]

До момента на обявяването на първата грипна пандемия за 21-и век през Април 2009 година не са били констатирани инфекции сред хора и свине от новопоявилия се вирусен щам, *наречен Пандемичен инфлуенца*

A/H1N1 (2009) вирус (Veguilla, V, 2011). По данни на СЗО към 01 Април 2010г. (10 дена преди обявяване началото на пост-пандемичния период) през периода на пандемията заболели от Пандемичен инфлуенца A/H1N1 (2009) вирус има в над 200 държави по света, от които над 18 000 случая са завършили фатално (Faix, 2009). В България първите случаи на заболели от новия щам грипен вирус са хора пристигнали от САЩ и техни близки. В края на пандемията статистиката за страната сочи 824 потвърдени случая на заболели, от които 40 завършили с летален край. След обявяването на пост-пандемичен период и констатирането на новопоявили се щам като сезонен грипен вирус периодично се съобщават случаи на зараза сред хората. Към началото на Юни 2011 са доказани 508 случая на изолирани оселтамивир-резистентни мутанти на Пандемичен инфлуенца A/H1N1 (2009) вирус. По данни на Световната Организация за Здравето на Животните (OIE) по време на грипната пандемия са докладвани редица случаи на ***огнища от този вирус и при свине***. Първият съобщен случай е датиран от 21 Април 2009г. във ферма за свине в Канада. По-късно е установено, че вирусът е идентичен с този, предизвикващ заболяване при хората. Счита се, че той е бил пренесен от болен работник-дърводелец, пътувал в Мексико. Следва вълна от огнища в различни ферми по света, като засегнатите държави са 24 (Канада, Аржентина, Австралия, Чили, Обединеното Кралство, Ирландия, Норвегия, Япония, Исландия, САЩ, Тайпе, Индонезия, Финландия, Италия, Мексико, Германия, Китай, Тайланд, Корея, Русия, Дания, Франция, Сърбия, Хонг-Конг – посочени по хронологичен ред), от които 11 в рамките на европейския континент. Последните обявени случаи са през Септември 2010 година. Най-вече са засегнати ферми за отглеждане на свине, но се наблюдават и такива за пуйки. От общо 24 страни в 22 огнищата са във ферми за отглеждане на свине или кланници, в 4 – за пуйки, а от Китай е съобщен един случай на 2 заразени кучета. За 10 от огнищата се счита, че заразата е пренесена от хора, а 6 са установени по програми за надзор или нарочен мониторинг. За останалите източникът е констатиран като неизвестен. От Исландия е съобщено за случай на двама човека, заболели след зараза при вземане на проби от болни свине в огнище.

Преминаването на вирусите през видовата бариера е рядко явление, но може да доведе до епидемия в новия вид гостоприемник. От друга страна, новият вирус може да реасортира с вече адаптиран вирус, от което се образува поколение от нова генетина линия или вариант. Свинете се различават от другите видове по това, че клетките им притежават рецептори, към които могат да се свържат както свински, така и птичи, и човешки инфлуенца вируси (Фиг.13). ***Така два или повече вируса могат да ко-инфектират една клетка, което може да доведе до образуването на нови реасортанти*** (De Jong, 2000).



Фиг. 13. Естествените резервоари на инфлуенца А вирусите и междувидовидовото разпространение на вируса.

В последните години има данни за преодоляване на видовата бариера сред гостоприемниците, от страна на типични птичи щамове на Инфлуенца А вирус и последвали случаи на заболявания у хора със сериозни усложнения и висок процент смъртност. Такива случаи са този от 1997 в Хонг Конг с 6 починали от 18 заразени, вследствие на инфекция с H5N1 грипен щам (De Jong et al., 1997; Claas et al., 1998), както и този от 1999 с 2 случая на заразени с H9N2. (Peiris et al., 1999). По данни на СЗО към Декември 2010 са регистрирани общо 510 случая на лабораторно потвърдена H5N1 инфекция у хора, от които 303 с летален изход, но тъй като не са докладвани всички случаи на зараза с H5N1, смъртността не може да се изчисли в точни проценти.

През 2009 година бяхме свидетели на последната Световна грипна пандемия, причинена от нетипичен за хората вирусен щам Инфлуенца А/H1N1. За следващите сезони заболяемостта от пандемичния щам сред хора е представен по региони за България (Табл. 1., 2. и Фиг.14).

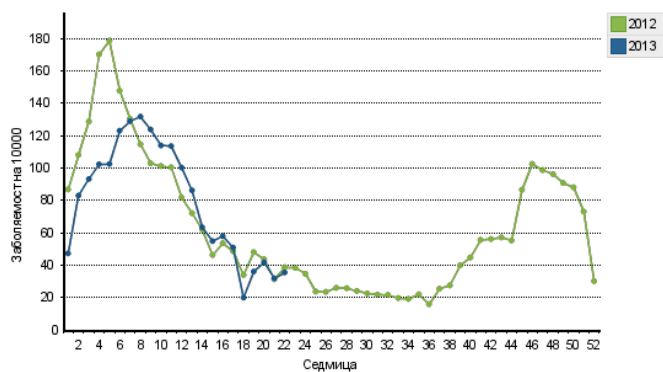
Табл. 1. Данни за заболяемостта на хора от пандемичния щам H1N1 на Националната референтна лаборатория по Грп и ОРЗ, НЦЗБП (непубликувани данни на д-р Нели Корсун, НРЛ „Грп и ОРЗ“, НЦЗПБ).

Сезон 2010/2011г.		
Област	Брой изследвани проби	Положителни за грипен вирус A(H1N1)pdm09

София	389	125 (32%)
Шумен	58	21 (36%)
Бургас	48	15 (31%)
Самоков	34	9 (27%)
Разград	30	13 (43%)
Добрич	15	3
Смолян	10	3
Габрово	5	3
Силистра	7	1
Кюстендил	8	1
Хасково	6	1

Табл. 2. Данни за заболяемостта на хора от инфлуенца А щамове H1N1/H3N2 на Националната референтна лаборатория по Грп и ОРЗ, НЦЗБП (<http://grippe.gateway.bg/>)

година	H1N1	H3N2
2011	171	7
2012	0	243



Фиг. 14. Данни за заболяемостта на хора от грип и ОРЗ на Националната референтна лаборатория по Грп и ОРЗ, НЦЗБП (<http://grippe.gateway.bg/>).

Клинични признаци и епизоотична информация относно разпространението на свинския грипен вирус в България

Свинският грипен вирус се разпространява чрез респираторни аерозоли, замърсени предмети и хора, движещи се между инфектирани и неинфектирани животни. Инкубационният период е от 1 до 3 дни, като свинете започват да екскретират вируса 24 часа след инфекцията до 7 до 10 дни. Състоянието на носителство може да продължи до 3 месеца.

Инфектирането със свински грипен вирус свине развиват остро респираторно заболяване на горните дихателни пътища. Болестта протича със същите клинични признаци, като при човека. Започва с характерна треска (обикновено 40,5-41,7°C), апатия, анорексия и затруднено дишане. Кашлица се наблюдава в последния стадий на болестта. По-рядко се наблюдава кихане, носни изтечения, конюнктивит и аборти.

Лезиите по белите дробове, предизвикани от инфлуенчния вирус се ограничават в апикалните и кардиалните лобуси, но често може да са засегнати и половината от белите дробове. Изменените участаци са колабирани и срастнали. Дихателните пътища са разширени и са запълнени с фибринозен ексудат, примесен с кръв. Бронхиалните и медиастиалните лимфни възли обикновено са увеличени.

При липса на усложнения повечето засегнати животни се възстановяват в рамките на 5 до 7 дни. Като усложнение може да се развие бронхопневмония, което е висок рисков фактор за смърт. Други усложнения включват вторични бактериални или вирусни инфекции. Заболеваемостта може да достигне 100%, а смъртността варира от 1 – 3% при липса на усложнения (Wright, 2001, Lamb, 2001).

Свинската инфлуенца е широко разпространена из целия свят и участва в етиологината структура на респираторния болестен комплекс по свинете. При изследване на проби от заклани прасета ***е установено, че в Европа преобладават щамове H1N1, H3N2 и H1N2.*** Анализът на данните от различни проучвания предполага, че има ясно географско разделение между европейските изолати, без значителни генетични различия между съвременните и исторически изолати, въпреки че има регионални различия.

Въз основа на анализа на фрагмента HA1 на хемаглутинаина се разкриват ясни разграничения между avH1N1 (H1N1-свински-подобен-на-птичи) и H1N2. След първата поява на H1N2 в началото на 1990-те години, вирусът

продължава да мутира и да образува стабилни линии в прасета. Анализът на аминокиселинните последователности за неураминидаза субтип N2 разкрива различия между H1N2 и H3N2. Освен това H1N2 има две сублинии, от които едната е разпространена основно във Франция, а другата има по-широк обхват, като включва Белгия, Италия и Франция.

Разпространяването на болестта е свързано най-вече с внасянето на инфектирани свине във възприемчиво стадо. Веднъж проникнал в стадото вирусът перзистира в младите прасета и новодошлите в стадото. Инфекцията продължава целогодишно, но пикът е през студените месеци. Обикновено болестта протича субклинично, като типичните признаци се наблюдават при 25-30% от стадото.

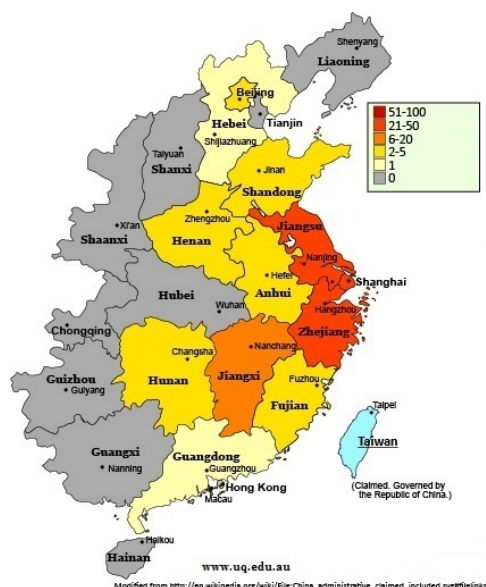
Предаването на инфекцията е предимно чрез директен контакт, като входната вратата е назофаренгиалния път, чрез дисперсията на аерозол при кашлица и кихане. Носните секрети съдържат вирус по време на острият фебрилен стадий на болестта и се екскретира около 6 дни. Проявата на клинични признаци зависят от много фактори, но най-важните са: наличието на майчин имунитет, вирусния щам (птичият like H1N1 причинява заболяване с по-силна проява на клиника, отколкото класическият H1N1 и реасортираният H3N2 човешки-like вирус, при които се наблюдава слаби лезии и лека интерстициална пневмония), начина на инокулация (при проникване на вирусът до долните дихателни пътища, белите дробове са силно засегнати и болестта протича по тежко). Инфлуенчният вирус се реплицира в целия респираторен тракт, но таргетният орган са белите дробове, така че инокулацията на голямо количество вирус интраназално води до субклинично протичане на инфекцията, докато аерозолното и интратрахеалното заразяване предизвиква типични клинични признаци и вторична бактериална инфекция.

В България до този момент са правени само епизодични проучвания на инфлуенца А вирусите при свинете. По данни на Некул Милев (1981), Мотовски (2001) в България е установявана установена циркулация на субтип H3N2.

3. Епидемия от нов инфлуенца А вирус, щам (H7N9) в Китай

На 31 март 2013 г. здравните власти на Китай докладваха за три случая на хора, инфектирани с нов птичи грипен вирус H7N9. Два от тях бяха в град Шанхай и един в провинция Анхуей. Първият докладван случай бе при 87-годишен мъж от град Шанхай, който съобщава за появата на грипоподобни симптоми на 19 февруари 2013 година. В другите два случая заболяването е било установено на 27 февруари и респ. на 15 март 2013 г. [3]. До 12 август 2013 г. броят на лабораторно-потвърдените случаи при хора, заразени с H7N9, достига 135, от които 44 фатални. Засегнати бяха единадесет области, включително района на Пекин, обявен е и един случай в Китайски Тайпей [5] (Фиг. 15).

Клиничните признаци на това заболяване при хората включват висока температура, непродуктивна и суха кашлица, задух, диспнея, хипоксия [2, 7]. Усложненията от вирусната инфекция обикновено са септичен шок, остра респираторна недостатъчност, хипоксемия, остра бъбречна недостатъчност, множествена органна дисфункция, енцефалопатия и бактериални и гъбични инфекции.

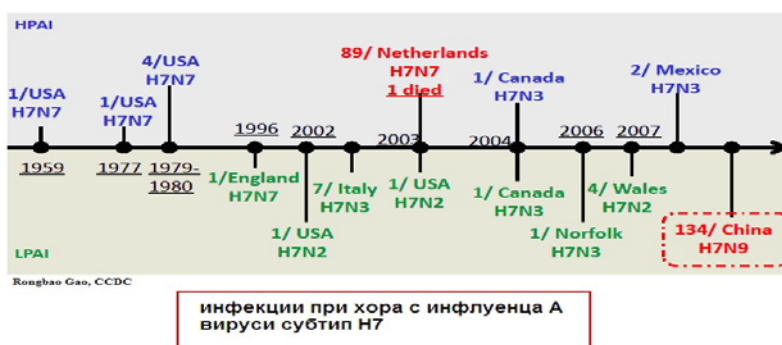


Фигура 15. Области в Китай с установена инфекция с инфлуенца А H7N9 вирус при хора

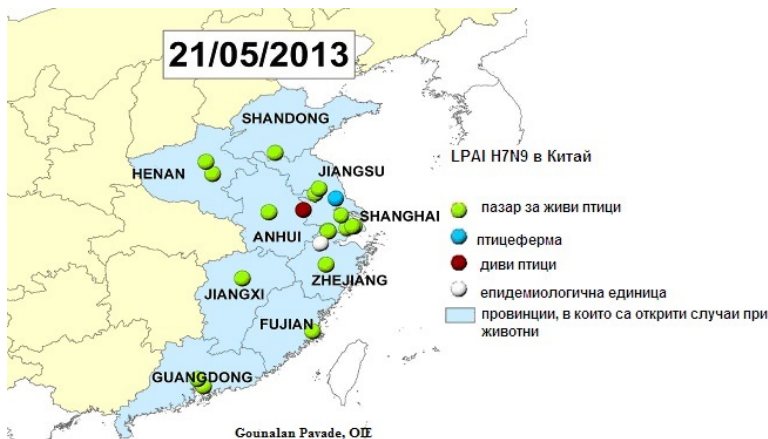
Генетичното проучване на вируса показва, че хемаглутининовият ген (HA) е с високо ниво на идентичност (над 95%) с H7N3 вируси, открити наскоро в патици от пазари за живи птици в Китай [9]. Неураминидазният ген (NA) е с над 96% идентичност с N9 гени от вируси, циркулиращи през последните години сред домашни патици в Китай и Корея, но с характерно отпадане на 15 нуклеотидни остатъка (5 аминокиселини в кодиращия протеин). Останалите шест вирусни гена (PB2, PB1, PA, NP, M и NS) имат най-висока идентичност (99%) с H9N2 птичи вируси, които циркулират в Китай от 1994 г. насам [2, 9]. **Тези данни сочат, че всъщност новоустановеният щам H7N9 е възникнал като реасортант от три различни вируса от домашни и диви птици.**

От 1996 г. до 2012 г. инфекции на хора с птичи инфлуенца вируси, субтип H7, са докладвани в Канада, Италия, Мексико, Холандия, Обединеното Кралство и САЩ. Повечето от тези случаи са свързани с огнища при домашни птици. Инфекцията при хора обикновено води до конюнктивит и леки симптоми на респираторно заболяване, с изключение на един смъртен случай в Холандия през 2003 г. (Фиг. 16). Прегледът на литературата показва, че до момента на докладване на случаите в Китай, инфекция с H7N9 не е била установявана при хора [10].

Фиг. 16. Инфекции при хора с инфлуенца А вируси субтип H7 от 1959 г. до 20 юли 2013 г.



В резултат от настъпилата епидемична ситуация, Министерството на Земеделieto на Китай стартира обширна Надзорна програма за установяване наличието на новия вирус или на антитела срещу него сред птиците, отглеждани в засегнатите и съседните административни области. Изпитани са над 700 000 серумни проби, а чрез вирусологични методи – близо 200 000 проби. На 4 април 2013 г., само няколко дни след установяването на H7N9 при хора, Министерството на земеделието на Китай съобщава за наличие на нископатогенна инфлуенца по птиците, причинена от H7N9 в град Шанхай. Процентът на идентичност на новоизолирания птичи вирус с H7N9 вируса, изолиран по-рано от хора, е 99%. От това може да се предположи, че човешките инфекции най-вероятно са в резултат на контакт със заразени птици. При проведения надзор, от ферми не са изолирани вируси, но са установени антитела срещу вируса. За разлика от това, от птиците от живи пазари са изолирани 53 щам на H7N9, включително от патици, пилета и гълъби (Фиг. 17).



Фигура 17. Области в Китай с установена инфекция с инфлуенца А H7N9 вирус при птици

На 6 април 2013 г., веднага след доказването на инфекцията с H7N9 сред птици, общинските органи на Шанхай затварят птичите живи пазари. През следващите седмици се констатира значително намаляване на заболялите хора, което потвърждава хипотезата, че основният източник на инфекцията са заразени домашни птици [1].

Изолираните до сега H7N9 вируси показват някои различия в гените, което предполага и различна еволюционна траектория на отделните грипни щамове. Например се смята, че някои мутации в гените на новоизолираните H7N9 вируси, водещи до заместване или отпадане на аминокиселинни остатъци в различни вирусни протеини, понижават чувствителността на тези вируси към препаратите oseltamivir и zanamivir [4, 8] и към адамантановите противовирусни лекарства, и водят до изразен тропизъм на вируса към респираторния тракт [3]. Освен това се счита, че такива генетични мутации определят увеличаване афинитета на съответните вируси към хора [6].

До момента няма данни за наличие на кръстосана реактивност на новоизолирания вирус с антитела, образувани при прилагане на настоящите сезонни ваксини, което от своя страна определя „девственост“ на човешката популация спрямо H7N9.

Естествените инфекции с H7N9 вируси при пилета, патици и други птици протичат асимптоматично, но с предизвикване на имунен отговор, който може да се установи само лабораторно. Вирусът се размножава основно в дихателните пътища и се предава по въздушно-капков път или чрез пряк контакт. Експерименталните инфекции на пилета също показват напълно безсимптомно протичане на заболяването.

Появата на човешките инфекции с H7N9 вирус налага разширяването и засилването на надзора на домашни и диви птици, както и на ферми и кланици в цял свят. *Липсата на клинични признаци със същевременно протичане на инфекциозен процес и излъчване на вируса от домашните птици, е особено опасна ситуация, при която разпространението на причинителя може да остане незабелязано за дълго време. В същото време още не е изяснена ролята на дивите водоплаващи птици за разпространяването на H7N9 вируса и се знае много малко за чувствителността им към него. Това, както и потенциалът на всеки нископатогенен H7 вирус да мутира във*

високопатогенна форма, определят необходимостта от поддържането на постоянна диагностична готовност и от извършването на активен надзор и вземане на проби от асимптоматични животни за лабораторно откриване на вируса в респираторен секрет или на специфични антитела в серуми. Завишено внимание от страна на медицинските служби при случаи сред хора, отглеждащи домашни птици и колаборирането между отделните институции, имащи отношение към проблема, също са важни фактори за по-пълното изясняване на разпространението, генетичното изменение и оценяването на епидемичния потенциал на инфлуенца А вирусите.

Нов инфлуенца А(Н7N9) вирус се появи в Китай през февруари 2013 г, причиняващ епидемия при хора, която се характеризира с бързо разпространение и голяма смъртност. След първия случай инфекцията е потвърдена в провинциите Minhang и Shanghai до 31 март 2013. Болестта постепенно се разпространява в други две съседни провинции Jiangsu и Anhui през следващите 4 седмици. Първоначално броят на заболялите е малък, след това започва да нараства бързо, което предизвиква сериозна загриженост в целия свят. Китайските власти реагират бързо с ограничителни мерки (затворени са пазарите за живи птици). Досега инфлуенца А(Н7N9) не е установен извън територията на Китай. До 1.11.2013 г. заболяването е стационарно само в Китай и нови инфекции се появяват рядко. Учените и компетентните органи обаче са загрижени от опасността от пандемия.

Извършени са задълбочени проучвания върху епидемиологията, диагностиката терапията и етиологията на този грипен вирус. Все още не е изяснено обаче териториалното разпространение на тази нововъзникнала инфекция, което е от значение за ефективен контрол и профилактика.

За периода февруари-май 2013 г са регистрирани 131 случая, 93 са мъже (71%) и 38 са жени (31%). Възрастта на засегнатите е от две до 91 години. Мъжете над 60 години са 39% (51/131). От тези 131 случая 38 умират (29%) от тях 28 са мъже и 8 са жени.

Териториалното разпределение на случаите на заболяли от инфлуенца А(Н7N9)е представено на карта. Най- много случаи има от 19 март до 22 април- 113, а най- много смъртни случаи от 2 април до 13 май.

За проучвания период са засегнати 10 провинции на Китай като 80% от случаите (106/131) са в провинциите Zhejiang, Shanghai и Jiangsu намиращи се на източното крайбрежие. Въпреки високата концентрация на населението в засегнатите провинции корелационният анализ по метода на Pearson ($r: 0.17$; $p=0.1702$) показва, че няма статистически значима връзка между инцидентността и гъстотата на населението

В началото на епидемията случаите са много малко за периода 19 февруари- 18 март. Първите заболяли хора са в Шанхай и оттам в провинциите Zhejiang, Jiangsu, и Anhui. Най много случаи има от 19 март до 22 април. Установеният наскоро в Китай вирус Н7N9 на инфлуенцата по птиците повдигна

важни въпроси относно това, доколко представлява риска за здравето на хората. Сравнението на този серотип със серотиповете H7N7 (Холандия 2003) и H7N1 (Италия 1999) показва, че серотипът H7N9 има широко разпространение в Китай. Безпокойство буди фактът, че установеният при H7N9 генетичен маркер PB2E627K (белег за адаптация към човека) е подобен на маркера присъщ на серотипа H7N7 причинил смъртта на един ветеринарен лекар в Холандия през 2003 г.

След 31 март 2013 г в бяха установени заболявания при хора причинени от H7N9 вирус на инфлуенцата по птиците. До 22 април заболяха 122 човека с 20 смъртни случаи. Този нов реасортиран вирус на инфлуенцата притежава 6 генни сегмента от птичия A(H9N2) вирус включени в хемаглутитин субтип 7 и неураминидаза субтип N9, произхождащи от диви птици. Случаите при хора са регистрирани в 4 провинции на източен Китай. И досега източникът за инфекция за хората не е изяснен достатъчно. Този вирус е изолиран при домашни птици, гълъби, патици и околна среда на няколко пазара за птици, вследствие на което китайските власти затварят тези обекти и налагат контрол на пътните артерии. Унищожени са всички птици в няколко птицеферми. Провеждат се задълбочени епизоотологични и епидемиологични проучвания. Поради това, че вирусът притежава хемаглутитин H7 е направен сравнителен анализ между него и серотиповете H7N7 (Холандия 2003) и H7N1 (Италия 1999).

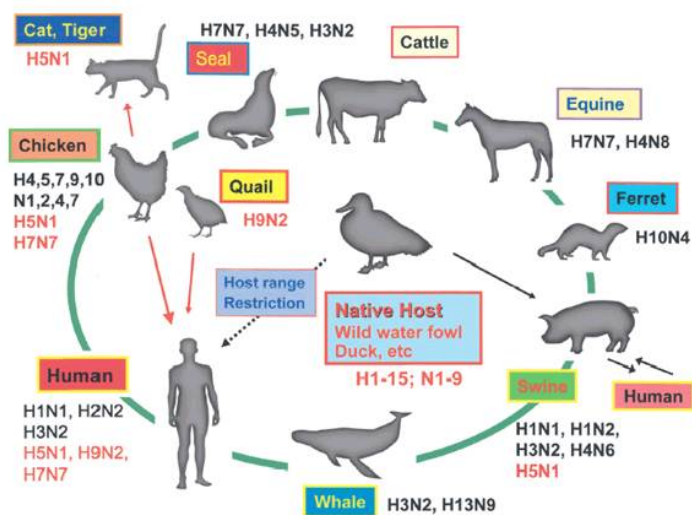
Преди 10 години **Холандия** бе засегната от серотип H7N7, установен в 255 птицеферми и унищожени 30 милиона птици. Клинични признаци показват 452 работници в тези птицеферми, а един ветеринарен лекар умира. По време та тази епидемия повечето заболели показват леки клинични признаци- главно конюнктивити. Вирусът е изолиран от очни тампони и назални тампони. Най-лесно вирусът се изолира от очни тампони. Опитите показват, че конюнктивата е важна входна врата за вируса. Такива клинични симптоми не са установени при епидемията в Китай през 2013 г.

Сравнителен анализ основан на генетичните изследвания. Такъв анализ е направен между китайския вирус H7N9 и серотиповете H7N7 (Холандия 2003) и H7N1 (Италия 1999) и показва, че хората не са продължение на епизоотичния процес и не са източник на инфекция за други хора. Оценявайки различията между посочените три вируса може да се направи изводът, че е имало широко на вируса H7N9 под формата на скрит епизоотичен процес и адаптация към домашни птици преди да бъде установен при хора.

Маркери за адаптация на вируса към хора. Повечето от клиничните случаи при хора със серотипа H7N7 показват слаби симптоми с изключение на един смъртен случай, при който **е установен генетичен маркер, показващ**

адаптиране към бозайници - PB2 E627K. Това е показател за мутация станала по време на инфекциозния процес и признак за висока патогенност. Китайският щам H7N9 изолиран от хора също притежава сегмента PB2 E627K, но не и от щамове изолирани от птици и околна среда. Установени са 4 смъртни случая при хора, причинени от вирус с генетичния сегмент PB2 E627K. С изключение на един случай не са доказани леки клинични форми при хора причинени от серотип H7N9.

Досега и при трите епизоотии/епидемии през 1999, 2003 и 2013 г не е установено предаване на вируса от човек на човек, което обаче не е гаранция, че тази тенденция ще продължава. Съгласно представената схема на Фиг.18 ясно се виждат очертаните взаимовръзки на циркулацията, миграцията и преодоляването на междувидовата бариера на отделните щамове грипни вируси, актуални след 2006 г. в Света.



Фиг.18. Междувидова циркулация и миграция на Инфлуенца А вирусите

Пет от седем A(H7N9) вирусни щамове изолирани от хора (2 бр.), птици (2 бр.) и околна среда (1 бр.) имат мутация в хемаглутинаина - Q226L, което е свързано с вирусни рецептори към клетките долния респираторен тракт. Такава комбинация от гени е причинила пандемии през 1957 и 1968 г. с **аерогенно** предаване на A (H5 N1) вируси. Настоящата епизоотия/епидемия е свързана с рецептори за възприемчивост на хората към новия вирус. Предполага се, че генна комбинация A(H7N9) със сегмент PB2 E627K е маркер за адаптация към бозайници. За периода от 31 март до 21 април 2013 г., бе установен непрекъснато нарастващ брой на инфекции при хора с вируса на птичата инфлуенца А (H7N9), като лабораторно потвърдените случаи на заразяване с този вирус достигна 102 [1,2]. Инфекциите с инфлуенца А (H7N9) при хората водят до тежко заболяване [3,4], което протича като остро и тежко респираторно заболяване при по-възрастните пациенти [3,5]. При обобщаване на данните от проучването за изложените на инфектиране различни възрастови групи хора, работещи в птицевъдния отрасъл на Китай **авторите оценяват, че**

рискът да се предизвика сериозно заболяване след инфекция с вируса е 5.1 пъти по-висока при хората над 65 годишна възраст в сравнение с тези от по-млада възраст. Резултатите показват, че до тази дата 210-250 случаи на инфекции с вируса на птичата инфлуенца А (H7N9) при хора са останали неидентифицирани и това се дължи на слаба клинична проява на болестта при пациентите от по-млада възраст. Това налага по-внимателно серо-епидемиологично изследване и оценка на риска от инфлуенца А (H7N9) в инфектираните региони [6].

На 14 октомври 2013 г. в провинция Шейланг, Китай посредством Националната система за надзор при случай на тежка пневмония с необяснен произход, при пациент на средна възраст 30 години, са идентифицирали птичи Инфлуенца А вирус (H7N9). Епидемиологичните и клиничните наблюдения са били постоянни и сравними с тези, наблюдавани по време на епидемията със същата инфекция при хора от пролетта на 2013г. Лабораторните изследвания показват 99.6% идентичност с ранните щамове на птичия Инфлуенца А вирус, щам H7N9, изолиран от хора през пролетта на 2013г. с изключение на 5 мутации в NA ген. Произходът на тези мутации за сега остава неясен, както и това, че все още няма отговор на въпроса как те биха се отразили на вирулентността, патогенността и предаването на вируса? Остава те да бъдат определени в бъдеще. Положителните PCR резултати от 9 проби, открити в проби от пазарите за живи птици показват недвусмислено, че вирусът продължава да циркулира в птичата популация и да засяга човешката популация [5,6].

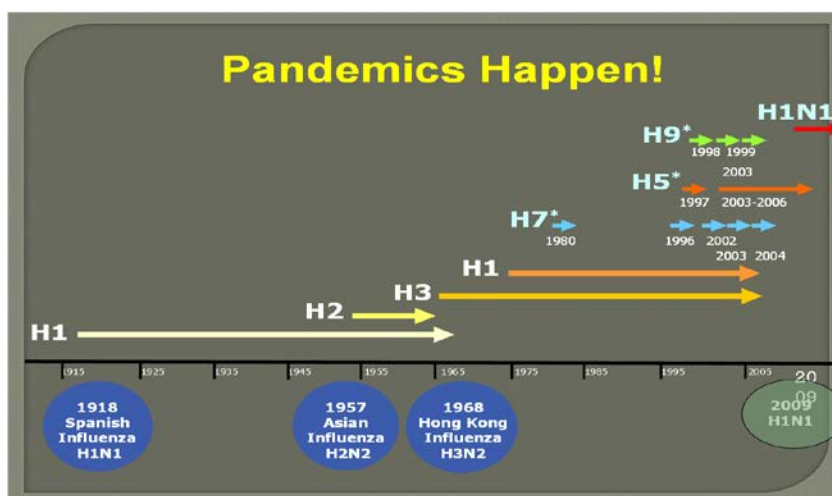
На 23 октомври 2013г втори лабораторно потвърден случай е бил идентифициран в същата провинция. Касае се за мъж на възраст около 60 години, който живее в крайградския район на гр. Яксинг на провинция Шейланг, и чиято основна работа е била да осъществява транспорт и търговия с живи пилета.

В съобщението се описани лабораторно потвърдените случаи на инфекция в вирус на птичата инфлуенца А, щам (H7N9) в провинция Шейланг, Китай от есента на 2013 г. Случаите показват, че инфекцията с вируса на Инфлуенца А (H7N9) се завръща отново след 3 месечно прекъсване от лятото на 2013 г. и 5 месеца след нейното начало през пролетта на същата година в Югоизточен Китай. Тези данни са доказателство за възможен висок риск от голям епидемичен взрив, който може да се очаква през зимата на 2013/2014 г. [1]. Епидемиологичните, клиничните и лабораторните данни са подобни на тези от предишните случаи на заболяването в провинция Шейланг от тази пролет, без обаче да има данни за устойчиво предаване на вируса от човек на човек. Първият случай се различава от предишните по това, че се касае за млад пациент с тежка белодробна инфекция и без данни за директен контакт с птици. Повечето лабораторно потвърдени случаи в миналото са били при по-възрастни пациенти (на възраст около и над 60 години) и изложени на пряк контакт с птици основно на пазарите за живи птици [1,2,3]. Системата за надзор на необяснените случаи на пневмонии в провинция Шейланг е създадена и функционира от 2004 г. в продължение на 10 години. През 2013 г.

следвайки потвърждаването на първия случай на инфекция с вируса на Инфлуенца А, щам (H7N9) на 1-ви април системата е установила до лятото на 2013 г. само един случаи на инфлуенца А H7N9) и нито един случаи до 14 октомври. Това състояние е обичайно за сезонността на случаите на инфлуенца А (H7N9) и много наподобява на случаите на високопатогенната инфлуенца А с щам H5N1 в Китай, които се откриваха главно през зимния сезон [4]. ***И ако циркулация на вирус Инфлуенца А (H7N9) продължава в птичата популация в провинция Шейланг, то се очаква и честотата на поява на заболяване при хората в Китай да се повиши, когато през зимата температурите спаднат.***

Може ли да се избегне пандемията?

Никой не би могъл да твърди това със сигурност. Инфлуенца вирусите са крайно непостоянни в своето поведение, което не се поддава на прогнози. Очакванията на СЗО са оптимистични, ако се вземат необходимите мерки за предотвратяване на пандемично развитие, то тя може и да не случи. **Най-голям приоритет в момента има ограничаването на възможностите за излагане на хората на най-големия резервоар на вируса, какъвто са домашните птици.** Това може да се постигне чрез бързо диагностициране на огнищата от високо патогенна Инфлуенца при домашните птици и спешно въвеждане на контролни мерки, включващи унищожаване на всички инфектирани и изложени на заболяването птичи стада, както и отстраняване и унищожаване на инфектираните птици. Днес епидемиологията има всички необходими доказателства за повишен риск за предаване на заболяването на хора, когато съществува огнище на заболяване при домашните птици, предизвикано от HPAI Influenza A, щам H5N1 (Фиг.19).



Фиг. 19. Еволюция на пандемийте през последното столетие с въвличането на различни генетични компоненти на Инфлуенца А вирусите в тях.

При нарастване броя на инфекциите при хора, рискът за възникване на нов подтип на вируса се повишава, а с това и вероятността за възникване на пандемия. Тази взаимовръзка между разпространението на инфекцията при птиците и повишаване на риска от човешка инфекция е демонстрирана в пълна степен от моментната ситуация в Азия. ***Всички случаи на заболяване и смъртни случаи при хора във Китай, Виетнам и Тайланд и други страни в региона са във взаимовръзка с широкото разпространение на инфекциите с инфлуенчни вируси при птиците.*** СЗО подчертава необходимостта от спешни мерки в засегнатите страни и бързи действия както в животновъдния сектор, така и в селското стопанство като цяло. Например, при епизоотията от HPAI H5N1 в Хонг Конг през 1997 г., тоталното ликвидиране на популацията от птици, възлизащо на 1.5 милиона екземпляра, е осъществено само за 3 дни.

Тази драстична протиепизоотична мярка доведе до успешна борба с болестта при птиците и спря заразяването на хора с вируса H5N1. През 2003 г. ликвидирането на 30 милиона птици, инфектирани с вирус H7N7 (от общо 100 милиона) в Холандия отне около 1 седмица и също, заедно с останалите протиепизоотични мерки доведе до успешното потушаване на епизоотията. Бързите действия в тези две ситуации се приемат като решаващи за предотвратяване на пандемично заболяване при хората. Тази мярка, обаче спрямо Influenza A вирус, щам H7N9 все още не се предлага, защото той е слабо патогенен за птиците, а рискът от излагане на хората към него напълно може да се контролира, стига да се установи неговия превленс и разпространение в стадата.

Изводи:

- 1. Инфекцията с вирус на птичата Инфлуенца А, щам H7N9 се появява отново през октомври 2013 г. в провинция Шейланг, Китай, подсказвайки потенциал за нова епидемична вълна през тази зима.***
- 2. Необходимо е да се следи пандемичния потенциал на този нововъзникващ вирус, който е LoPAI и за който домашните птици са резервоар и който има изявена и постоянна циркулация сред тях през цялото лято на 2013 г.***
- 3. Разширеният надзор, осъществяван сред човешката и птичата популации дава възможност за ранно разкриване и диагностициране на инфектираните хора, докато хигиената и мерките за намаляване на контакта с живи птици може да намали риска от тежки случаи и смъртност.***

4. *Завишеният надзор в птицевъдния сектор би помогнал за успешното разкриване циркулацията на Инфлуенца А вирус, щам H7N9 и ранно изпреварващо информиране, преди появата на случаите на инфекция сред хората.*
5. *Очаква се в по-продължителен времеви период с реформирането на сектора на птицевъдство в Китай и системите на доставки и търговия с живи птици да доведат до редуциране на риска за хората от инфекция с птичи грипни вируси.*

Литературни източници:

1. Cherbonnel M., J. Lamandé, C. Allée, A. Schmitz, K. Ogor, G. Le Gall-Reculé, M. O. Le Bras, C. Guillemoto, I. Pierre, J.-P. Picault, and V. Jestin. Virologic Findings in Selected Free-Range Mule Duck Farms at High Risk for Avian Influenza Infection. *Avian Diseases*. 2006; 51: 408–413.
2. Lamb R A., Krug RM. *Orthomyxoviridae: The viruses and their replication*. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia. 2001
3. Shu LP, Sharp GB, Lin YP, Claas EC, Krauss SL, Shortridge KF, Webster RG. Genetic reassortment in pandemic and interpandemic influenza viruses. A study of 122 viruses infecting humans. *Eur J Epidemiol*. 1996;12(1):63-70.
4. Suarez DL, Das A, Ellis E. Review of rapid molecular diagnostic tools for avian influenza virus. *Avian diseases*. 2007; 51: 201-208.
5. Swayne DE, Pantin-Jackwood M. Pathogenicity of avian influenza viruses in poultry. *Dev Biol (Basel)*. 2006; 124:61–7.
6. Takeda M, Pekosz A, Shuck K, Pinto LH, Lamb RA. Influenza A virus M2 ion channel activity is essential for efficient replication in tissue culture. *J Virol*. 2002 Feb; 76(3):1391-9.
7. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev*. 1992 Mar; 56(1):152-79. Review.
8. Morse SS, Hughes JM. Developing an integrated epidemiologic approach to emerging infectious diseases. *Epidemiol Rev* 1996; 18: 1–3. | [Article](#) | [PubMed](#) |
9. Woolhouse ME, Gowtage-Sequeria S. Host range and emerging and reemerging pathogens. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1842–1847. | [Article](#) | [PubMed](#) |
10. Woolhouse M, Scott F, Hudson Z, Howey R, Chase-Topping M. Human viruses: discovery and emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012; 367: 2864–2871. | [Article](#) | [PubMed](#) |
11. Howard CR. *Lecture Notes on Emerging Viruses And human Health*. Singapore: World Scientific Publishing, 2012.
12. Ooi EE, Gubler DJ. Dengue in Southeast Asia: epidemiological characteristics and strategic challenges in disease prevention. *Cad Saude Publica* 2009; 25 Suppl 1: S115–S124. | [Article](#) | [PubMed](#) |
13. Lambrechts L, Paaijmans KP, Fansiri T *et al*. Impact of daily temperature fluctuations on dengue virus transmission by *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 7460–7465. | [Article](#) | [PubMed](#) |

14. Wearing HJ, Rohani P. Ecological and immunological determinants of dengue epidemics. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 11802–11807. | [Article](#) | [PubMed](#) |
15. Milazzo ML, Cajimat MN, Duno G, Duno F, Utrera A, Fulhorst CF. Transmission of Guanarito and Pirital viruses among wild rodents, Venezuela. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 2209–2215. | [Article](#) | [PubMed](#) |
16. Patz JA, Daszak P, Tabor GM *et al.* Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ Health Perspect* 2004; 112: 1092–1098. | [Article](#) | [PubMed](#) |
17. Gale P, Stephenson B, Brouwer A *et al.* Impact of climate change on risk of incursion of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in livestock in Europe through migratory birds. *J Appl Microbiol* 2012; 112: 246–257. | [Article](#) | [PubMed](#) |
18. Hufnagel L, Brockmann D, Geisel T. Forecast and control of epidemics in a globalized world. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 15124–15129. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
19. Hosseini P, Sokolow SH, Vandegrift KJ, Kilpatrick AM, Daszak P. Predictive power of air travel and socio-economic data for early pandemic spread. *PLoS One* 2010; 5: e12763. | [Article](#) | [PubMed](#) |
20. Askar MA, Mohr O, Eckmanns T, Krause G, Poggensee G. Quantitative assessment of passenger flows in Europe and its implications for tracing contacts of infectious passengers. *Euro Surveill* 2012; 17: pii: 20195.
21. Roehrig JT, Layton M, Smith P, Campbell GL, Nasci R, Lanciotti RS. The emergence of West Nile virus in North America: ecology, epidemiology, and surveillance. *Curr Top Microbiol Immunol* 2002; 267: 223–240. | [PubMed](#) | [CAS](#) |
22. Campbell GL, Marfin AA, Lanciotti RS, Gubler DJ. West Nile virus. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 519–529. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) |
23. Weiss RA, McMichael AJ. Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases. *Nat Med* 2004; 10: S70–S76. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
24. Nemirov K, Henttonen H, Vaheri A, Plyusnin A. Phylogenetic evidence for host switching in the evolution of hantaviruses carried by Apodemus mice. *Virus Res* 2002; 90: 207–215. | [Article](#) | [PubMed](#) |
25. Morzunov SP, Rowe JE, Ksiazek TG, Peters CJ, St Jeor SC, Nichol ST. Genetic analysis of the diversity and origin of hantaviruses in Peromyscus leucopus mice in North America. *J Virol* 1998; 72: 57–64. | [PubMed](#) |
26. Vapalahti O, Lundkvist A, Fedorov V *et al.* Isolation and characterization of a hantavirus from Lemmus sibiricus: evidence for host switch during hantavirus evolution. *J Virol* 1999; 73: 5586–5592. | [PubMed](#) |
27. Field H, de Jong C, Melville D *et al.* Hendra virus infection dynamics in Australian fruit bats. *PLoS One* 2011; 6: e28678. | [Article](#) | [PubMed](#) |
28. Wunner WH, Briggs DJ. Rabies in the 21 century. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4: e591. | [Article](#) | [PubMed](#) |
29. Wood JL, Leach M, Waldman L *et al.* A framework for the study of zoonotic disease emergence and its drivers: spillover of bat pathogens as a case study. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2012; 367: 2881–2892. | [Article](#) | [PubMed](#) |

30. Negredo A, Palacios G, Vazquez-Moron S *et al.* Discovery of an ebolavirus-like filovirus in europe. PLoS Pathog 2011; 7: e1002304. | [Article](#) | [PubMed](#) |
31. Leroy EM, Kumulungui B, Pourrut X *et al.* Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. Nature 2005; 438: 575–576. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
32. Pourrut X, Kumulungui B, Wittmann T *et al.* The natural history of Ebola virus in Africa. Microbes Infect 2005; 7: 1005–1014. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) |
33. Taylor DJ, Leach RW, Bruenn J. Filoviruses are ancient and integrated into mammalian genomes. BMC Evol Biol 2010; 10: 193. | [Article](#) | [PubMed](#) |
34. Balayan MS, Usmanov RK, Zamyatina NA, Djumalieva DI, Karas FR. Brief report: experimental hepatitis E infection in domestic pigs. J Med Virol 1990; 32: 58–59. | [Article](#) | [PubMed](#) |
35. Hsieh SY, Meng XJ, Wu YH *et al.* Identity of a novel swine hepatitis E virus in Taiwan forming a monophyletic group with Taiwan isolates of human hepatitis E virus. J Clin Microbiol 1999; 37: 3828–3834. | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
36. Payne CJ, Ellis TM, Plant SL, Gregory AR, Wilcox GE. Sequence data suggests big liver and spleen disease virus (BLSV) is genetically related to hepatitis E virus. Vet Microbiol 1999; 68: 119–125. | [Article](#) | [PubMed](#) |
37. Huang FF, Haqshenas G, Guenette DK *et al.* Detection by reverse transcription-PCR and genetic characterization of field isolates of swine hepatitis E virus from pigs in different geographic regions of the United States. J Clin Microbiol 2002; 40: 1326–1332. | [Article](#) | [PubMed](#) |
38. Miranda ME, White ME, Dayrit MM, Hayes CG, Ksiazek TG, Burans JP. Seroepidemiological study of filovirus related to Ebola in the Philippines. Lancet 1991; 337: 425–426. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
39. Barrette RW, Metwally SA, Rowland JM *et al.* Discovery of swine as a host for the Reston ebolavirus. Science 2009; 325: 204–206. | [Article](#) | [PubMed](#) |
40. Smith GJ, Bahl J, Vijaykrishna D *et al.* Dating the emergence of pandemic influenza viruses. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106: 11709–11712. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
41. Kapoor A, Simmonds P, Gerold G *et al.* Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus. Proc Natl Acad Sci USA 2011; 108: 11608–11613. | [Article](#) | [PubMed](#) |
42. Burbelo PD, Dubovi EJ, Simmonds P *et al.* Serology-enabled discovery of genetically diverse hepaciviruses in a new host. J Virol 2012; 86: 6171–6178. | [Article](#) | [PubMed](#) |
43. Stenglein MD, Sanders C, Kistler AL *et al.* Identification, characterization, and *in vitro* culture of highly divergent arenaviruses from boa constrictors and annulated tree boas: candidate etiological agents for snake inclusion body disease. MBio 2012; 3: e00180–12. | [Article](#) | [PubMed](#) |
44. Khodakevich L, Jezek Z, Messinger D. Monkeypox virus: ecology and public health significance. Bull World Health Organ 1988; 66: 747–752. | [PubMed](#) |
45. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: multistate outbreak of monkeypox—Illinois, Indiana, Kansas, Missouri, Ohio, and Wisconsin, 2003. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2003; 52: 642–646.
46. de Souza Trindade G, da Fonseca FG, Marques JT *et al.* Aracatuba virus: a vaccinia-like virus associated with infection in humans and cattle. Emerg Infect Dis 2003; 9: 155–160. | [Article](#) | [PubMed](#) |

47. Lau EH, Hsiung CA, Cowling BJ *et al.* A comparative epidemiologic analysis of SARS in Hong Kong, Beijing and Taiwan. BMC Infect Dis 2010; 10: 50. | [Article](#) | [PubMed](#) |
48. Lau SK, Woo PC, Li KS *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. Proc Natl Acad Sci USA 2005; 102: 14040–14045. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
49. Li W, Zhang C, Sui J *et al.* Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2. Embo J 2005; 24: 1634–1643. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
50. Woo PC, Lau SK, Huang Y, Yuen KY. Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. Exp Biol Med (Maywood) 2009; 234: 1117–1127. | [Article](#) | [PubMed](#) |
51. Goodman LB, Lyi SM, Johnson NC, Cifuentes JO, Hafenstein SL, Parrish CR. Binding site on the transferrin receptor for the parvovirus capsid and effects of altered affinity on cell uptake and infection. J Virol 2010; 84: 4969–4978. | [Article](#) | [PubMed](#) |
52. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 4620–4624. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
53. Matrosovich MN, Krauss S, Webster RG. H9N2 influenza A viruses from poultry in Asia have human virus-like receptor specificity. Virology 2001; 281: 156–162. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
54. Borrow P, Oldstone MB. Mechanism of lymphocytic choriomeningitis virus entry into cells. Virology 1994; 198: 1–9. | [Article](#) | [PubMed](#) |
55. Blight KJ, Kolykhalov AA, Rice CM. Efficient initiation of HCV RNA replication in cell culture. Science 2000; 290: 1972–1974. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
56. Wain LV, Bailes E, Bibollet-Ruche F *et al.* Adaptation of HIV-1 to its human host. Mol Biol Evol 2007; 24: 1853–1860. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
57. Briese T, Bird B, Kapoor V, Nichol ST, Lipkin WI. Batai and Ngari viruses: M segment reassortment and association with severe febrile disease outbreaks in East Africa. J Virol 2006; 80: 5627–5630. | [Article](#) | [PubMed](#) |
58. Hoffmann B, Scheuch M, Hoper D *et al.* Novel orthobunyavirus in Cattle, Europe, 2011. Emerg Infect Dis 2012; 18: 469–472. | [Article](#) | [PubMed](#) |
59. Graham RL, Baric RS. Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission. J Virol 2010; 84: 3134–3146. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
60. Kirmaier A, Wu F, Newman RM *et al.* TRIM5 suppresses cross-species transmission of a primate immunodeficiency virus and selects for emergence of resistant variants in the new species. PLoS biology 2010; 8 pii:e1000462.
61. Ylinen LM, Keckesova Z, Wilson SJ, Ranasinghe S, Towers GJ. Differential restriction of human immunodeficiency virus type 2 and simian immunodeficiency virus SIVmac by TRIM5alpha alleles. J Virol 2005; 79: 11580–11587. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
62. Yap MW, Nisole S, Stoye JP. A single amino acid change in the SPRY domain of human Trim5alpha leads to HIV-1 restriction. Curr Biol 2005; 15: 73–78. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |

63. Meyerson NR, Sawyer SL. Two-stepping through time: mammals and viruses. *Trends Microbiol* 2011; 19: 286–294. | [Article](#) | [PubMed](#) |
64. Neil SJ, Zang T, Bieniasz PD. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. *Nature* 2008; 451: 425–430. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
65. Sheehy AM, Gaddis NC, Choi JD, Malim MH. Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature* 2002; 418: 646–650. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
66. Compton AA, Hirsch VM, Emerman M. The host restriction factor APOBEC3G and retroviral Vif protein coevolve due to ongoing genetic conflict. *Cell Host Microbe* 2012; 11: 91–98. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
67. Mir KD, Bosinger SE, Gasper M *et al.* Simian immunodeficiency virus-induced alterations in monocyte production of tumor necrosis factor alpha contribute to reduced immune activation in sooty mangabeys. *J Virol* 2012; 86: 7605–7615. | [Article](#) | [PubMed](#) |
68. Lutschg V, Boucke K, Hemmi S, Greber UF. Chemotactic antiviral cytokines promote infectious apical entry of human adenovirus into polarized epithelial cells. *Nat Commun* 2011; 2: 391.
69. Everitt AR, Clare S, Pertel T *et al.* IFITM3 restricts the morbidity and mortality associated with influenza. *Nature* 2012; 484: 519–523. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
70. Muhlebach MD, Mateo M, Sinn PL *et al.* Adherens junction protein nectin-4 is the epithelial receptor for measles virus. *Nature* 2011; 480: 530–533. | [PubMed](#) |
71. Noyce RS, Bondre DG, Ha MN *et al.* Tumor cell marker PVRL4 (nectin 4) is an epithelial cell receptor for measles virus. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1002240. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
72. Fletcher NF, Howard C, McKeating JA. Over the fence or through the gate: how viruses infect polarized cells. *Immunotherapy* 2012; 4: 249–251. | [Article](#) | [PubMed](#) |
73. Valmas C, Grosch MN, Schumann M *et al.* Marburg virus evades interferon responses by a mechanism distinct from ebola virus. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000721. | [Article](#) | [PubMed](#) |
74. Hastie KM, Kimberlin CR, Zandonatti MA, MacRae IJ, Saphire EO. Structure of the Lassa virus nucleoprotein reveals a dsRNA-specific 3' to 5' exonuclease activity essential for immune suppression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 2396–2401. | [Article](#) | [PubMed](#) |
75. Holloway M. Outbreak not contained. West Nile virus triggers a reevaluation of public health surveillance. *Sci Am* 2000; 282: 20, 22. | [Article](#) | [PubMed](#) |
76. Lombardi VC, Ruscetti FW, Das Gupta J *et al.* Detection of an infectious retrovirus, XMRV, in blood cells of patients with chronic fatigue syndrome. *Science* 2009; 326: 585–589. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
77. Groom HC, Boucherit VC, Makinson K *et al.* Absence of xenotropic murine leukaemia virus-related virus in UK patients with chronic fatigue syndrome. *Retrovirology* 2010; 7: 10. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |
78. Hue S, Gray ER, Gall A *et al.* Disease-associated XMRV sequences are consistent with laboratory contamination. *Retrovirology* 2010; 7: 111. | [Article](#) | [PubMed](#) | [CAS](#) |

79. Linthicum KJ, Anyamba A, Tucker CJ, Kelley PW, Myers MF, Peters CJ. Climate and satellite indicators to forecast Rift Valley fever epidemics in Kenya. *Science* 1999; 285: 397–400. | [Article](#) | [PubMed](#) | [ISI](#) | [CAS](#) |
80. Heymann DL, Barakamfitye D, Szczeniowski M, Muyembe-Tamfum JJ, Bele O, Rodier G. Ebola hemorrhagic fever: lessons from Kikwit, Democratic Republic of the Congo. *J Infect Dis* 1999; 179 Suppl 1: S283–S286. | [Article](#) | [PubMed](#) |