

Эпизоотическая вспышка гриппа А / H5N1 среди диких и сельскохозяйственных птиц в окрестностях Комсомольска-на-Амуре осенью 2022 г.

Михаил Ю. Щелканов^{1,2}, Мария Н. Дунаева^{1,2}, Алексей А. Белик^{1,2}, Максим В. Гетке³, Анастасия Б. Потт¹, Ирина С. Чаленко⁴, Ольга В. Иунихина^{1,2}, Ирина Э. Домбровская⁵, Дмитрий В. Панкратов¹

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия

²Дальневосточный федеральный университет, Школа медицины и наук о жизни, Владивосток, Россия

³Филиал «Комсомольская городская станция по борьбе с болезнями животных» КГБУ

«Хабаровская городская станция по борьбе с болезнями животных», Комсомольск-на-Амуре, Россия

⁴Хабаровская краевая ветеринарная лаборатория, Хабаровск, Россия

⁵Приморская межобластная ветеринарная лаборатория, Уссурийск, Россия

Контактное лицо

Михаил Ю. Щелканов, доктор биологических наук, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора; 690087 Россия, Владивосток, ул. Сельская, д. 1. Тел. +79245297109

Email adorob@mail.ru

ORCID <https://www.orcid.org/0000-0001-8610-7623>

Формат цитирования

Щелканов М.Ю., Дунаева М.Н., Белик А.А., Гетке М.В., Потт А.Б., Чаленко И.С., Иунихина О.В., Домбровская И.Э., Панкратов Д.В. Эпизоотическая вспышка гриппа А / H5N1 среди диких и сельскохозяйственных птиц в окрестностях Комсомольска-на-Амуре осенью 2022 г. // Юг России: экология, развитие. 2024. Т.19, № 4. С. 41-56. DOI: 10.18470/1992-1098-2024-4-4

Получена 2 августа 2024 г.

Прошла рецензирование 14 сентября 2024 г.
Принята 15 октября 2024 г.

Резюме

Цель работы состояла в расшифровке эпизоотической вспышки в окрестностях Комсомольска-на-Амуре (Хабаровский край) в октябре 2022 г. среди диких и сельскохозяйственных птиц.

Материал и методы включали анализ эпизоотических данных, патологоанатомическое обследование тушек погибших птиц, сбор полевого материала и его транспортировку в лабораторию без разрыва холодовой цепочки, индикацию РНК вируса гриппа А с помощью ПЦР в реальном времени, изоляцию вирусных штаммов на модели развивающихся куриных эмбрионов с последующей оценкой активности вируса с помощью реакции гемагглютинации и инфекционного титра в линии почки эмбриона свиньи, секвенирование полноразмерного генома выделенных вирусных штаммов посредством нанопоровой технологии и по Сэнгеру с последующим привлечением процедур биоинформационного анализа.

Результаты показали, что эпизоотия среди диких птиц началась ещё в феврале 2022 г., а массовый падеж кур на птицефабрике «Комсомольская» сопровождалась гибеллю диких птиц в ее окрестностях. С помощью молекулярно-генетических методов диагностики было установлено, что этиологическим агентом эпизоотии стал вирус гриппа А подтипа Н5. Были изолированы 7 штаммов вируса гриппа А, анализ полноразмерного генома которых позволил классифицировать их как высоковирулентные варианты генетической подгруппы 2.3.4.4b субтипа H5N1.

Заключение: Восточная Азия, включая российский Дальний Восток, сохраняет статус центра генетического разнообразия высоковирулентного вируса гриппа А H5Nx, где имеет место циркуляция вируса среди местных популяций птиц и высокая вероятность реассортаций между различными вариантами вируса. Такая ситуация требует постоянной настороженности со стороны надзорных органов, неукоснительного выполнения требований биологической безопасности учреждениями и организациями, занятыми в сфере сельского хозяйства и природопользования, а также проведения в регионе регулярного эколого-вирусологического мониторинга.

Ключевые слова

Грипп птиц, эпизоотия, высоковирулентные штаммы, H5N1, генетическая подгруппа, 2.3.4.4b, *Corvus corax*, *Corvus corone*, *Gallus gallus*, Комсомольск-на-Амуре.

Epizootic outbreak of influenza A / H5N1 among wild and farm birds in the vicinity of Komsomolsk-on-Amur in the autumn of 2022

Mikhail Yu. Shchelkanov^{1,2}, Maria N. Dunaeva^{1,2}, Alexey A. Belik^{1,2}, Maxim V. Getke³, Anastasia B. Pott¹, Irina S. Chalenko⁴, Olga V. Iunikhina^{1,2}, Irina E. Dombrovskaya⁵ and Dmitry V. Pankratov¹

¹G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russia

²Far Eastern Federal University, School of Medicine and Life Sciences, Vladivostok, Russia

³Komsomolsk City Animal Disease Control Station Branch of the regional budgetary Institution Khabarovsk City Animal Disease Control Station, Komsomolsk-na-Amure, Russia

⁴Khabarovsk Regional Veterinary Laboratory, Khabarovsk, Russia

⁵Primorsky Interregional Veterinary Laboratory, Ussuriysk, Russia

Principal contact

Mikhail Yu. Shchelkanov, Doctor of Biological Sciences, Director of the G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor; 690087 Russia, Vladivostok, Selskaya str., 1.

Tel. +79245297109

Email adorob@mail.ru

ORCID <https://www.orcid.org/0000-0001-8610-7623>

How to cite this article

Shchelkanov M.Yu., Dunaeva M.N., Belik A.A., Getke M.V., Pott A.B., Chalenko I.S., Iunikhina O.V., Dombrovskaya I.E., Pankratov D.V.
Epizootic outbreak of influenza A / H5N1 among wild and farm birds in the vicinity of Komsomolsk-on-Amur in the autumn of 2022.
South of Russia: ecology, development. 2024; 19(4):41-56. (In Russ.) DOI: 10.18470/1992-1098-2024-4-4

Received 2 August 2024

Revised 14 September 2024

Accepted 15 October 2024

Abstract

Aim of the work was to investigate an epizootic outbreak in the vicinity of Komsomolsk-on-Amur (Khabarovsk Territory) in October 2022 among wild and agricultural birds.

Material and methods included analysis of epizootic data, pathologic and anatomical examination of the carcasses of dead birds, collection of field material and its transportation to the laboratory without breaking the cold chain, indication of influenza A virus RNA using real-time PCR, isolation of viral strains on a model of developing chicken embryos with subsequent assessment of virus activity using a hemagglutination reaction and infectious titer in the a swine embryo kidney cell line, sequencing of complete genome of isolated viral strains using nanopore and Sanger technologies followed by bioinformatics analysis procedures.

Results obtained show that epizootics among wild birds began in February 2022 and the mass death among chickens at the Komsomolskaya poultry farm was accompanied by the death of wild birds in its vicinity. Using molecular genetic diagnostic methods it was found that etiological agent of epizootic was the influenza A virus of the H5 subtype. Seven strains of influenza A virus were isolated, the analysis of the complete genome of which allowed them to be classified as highly pathogenic variants of the genetic subgroup 2.3.4.4b of H5N1 subtype.

Conclusions: East Asia including the Russian Far East retains the status of a center of genetic diversity of the highly pathogenic influenza A H5Nx virus, where the virus circulates among local bird populations and there is a high probability of reassortments between different variants the virus. Such a situation requires constant vigilance on the part of supervisory authorities, strict compliance with the requirements of biological safety by institutions and organizations engaged in agriculture and environmental management as well as regular ecological and virological monitoring in the region.

Key Words

Avian influenza, epizootics, highly pathogenic strains, H5N1, genetic subgroup, 2.3.4.4, *Corvus corax*, *Corvus corone*, *Gallus gallus*, Komsomolsk-na-Amure.

ВВЕДЕНИЕ

Природным резервуаром вируса гриппа А (Articulavirales: Orthomyxoviridae, *Alphainfluenzavirus*) являются дикие птицы водно-околоводного экологического комплекса, в первую очередь, гусеобразные (*Anseriformes*) и чайковые (*Charadriiformes: Laridae*) [1]. Все известные эпидемические и пандемические штаммы этого вируса имеют предшественников среди вариантов птичьего происхождения [2].

В популяциях птиц чаще всего циркулируют низковирулентные варианты вируса гриппа А (LPAI – low pathogenic avian influenza), однако в случае появления мутаций в сайте протеолитического расщепления гемагглютинина, фенотип изменяется на высоковирулентный (HPAI – highly pathogenic avian influenza) [3], и такие варианты вируса способны вызывать системную инфекцию со значительным (часто превышающим 90 %) уровнем летальности среди птиц с широким вовлечением в эпизоотический процесс менее характерных видов наземного древесно-кустарникового экологических комплексов [4–6]. HPAI наиболее эффективно преодолевает межвидовые барьеры и способен вызывать эпизоотические вспышки среди водных млекопитающих [7–10] и спорадические вспышки у людей с уровнем летальности 55 % [11]. По этой причине, расшифровка эпизоотических вспышек, связанных с HPAI, имеет важное значение для прогнозирования эволюции вируса гриппа А птиц и оценки его эпидемического потенциала.

Современная панзоотия HPAI H5Nx началась в 1996–1997 гг., когда в результате реассортации появился прототипный штамм HPAI A/goose/Guangdong/1/1996 (H5N1) [12], принадлежавший т.н. генотипу <0>. Осенью 2003 г. масштабная эпизоотия HPAI H5N1 генотипа <Z> охватила Юго-Восточную Азию [13], хотя в Северной Азии в этот период циркулировали лишь LPAI (в том числе H5N3) [14; 15]. Весной 2005 г. через Джунгарское миграционное русло, включающее крупный хаб на оз. Цинхай [16], вирус гриппа А <Z> проник на юг Западной Сибири, где вызвал обширную эпизоотию среди диких и сельскохозяйственных птиц с эпицентром в Чановской озерной котловине [17–19]. При этом, западносибирские и Цинхайские штаммы формируют, хоть и родственные, но всё же уже различные генетические подгруппы [18; 20]. Осенью того же года перелётные птицы распространяли западносибирскую генетическую подгруппу, ставшую основоположницей линии 2.2.1.x, на п-ов Индостан [21], европейскую часть России [22–24], Восточную и Западную Европу [25; 26] и Африку [27]; начался процесс формирования многочисленных региональных вариантов вируса [20]. В Северной Евразии сформировались две ключевые точки, позволяющие эффективно отслеживать изменение генотипов в процессе циркуляции HPAI между зимовочными и гнездовыми ареалами [20; 28]: в Европе – это Кубанско-Азовские плавни с высокой частотой встречаемости Ирано-Северокавказской генетической подгруппы [29], в Азии – оз. Убсу-Нур, долгое время служившее индикатором эволюции Тувинско-Сибирской генетической подгруппы 2.2.2.1 [30; 31].

Вплоть до весны 2008 г. HPAI H5N1 циркулировал в западном секторе Северной Евразии, к западу от р. Енисей (западнее примерно 100° в.д.) [32; 33]. В апреле 2008 г. HPAI H5N1 с мигрирующими дикими птицами вдоль Дальневосточно-Притихоокеанского

миграционного русла проник на территорию юга Приморского края, вызвав локальную эпизоотию среди непривитых домашних птиц в с. Воздвиженка и распространившись далее на север, положив начало Дальневосточно-Южноокеанской генетической подгруппе 2.3.2.1b [34]. Проникновение HPAI-вариантов вируса гриппа А в западный сектор Северной Евразии привело к появлению новых вирусных вариантов: в январе 2014 г. на юге Корейского п-ва в зимовочных популяциях диких птиц были обнаружены два новых генотипа HPAI H5N8, получивших обозначения <G1> и <D3> [35]. Во время весенней миграции генотип <D3> был разнесен перелётными птицами по западному сектору Северной Евразии, а осенью 2014 г. – ещё дальше: его штаммы были обнаружены на Японских о-вах [36] и в Якутской котловине (A/wigeon/Sakha/1/2014) [37]. Один из реассортантов <D3> – HPAI H5N2 – проник на территорию Северной Америки [38], подтвердив гипотезу Д.К. Львова с соавт. (2008) о том, что имеется «... возможность в обозримом будущем заражения в местах гнездования видов птиц, зимующих в Америке ...» [34, С. 8]. Сформировавшаяся при этом Еразийско-Американская генетическая подгруппа 2.3.4.4 оказалась наиболее успешной в эволюционном отношении [20].

Таким образом, центр генетического разнообразия HPAI H5Nx расширился и, в настоящее время, включает в себя не только Юго-Восточную, но и Восточную Азию, где наиболее актуальной является генетическая подгруппа 2.3.4.4 [20; 39–41]. Этот тезис подтверждают и результаты представленной статьи, посвященной расшифровке эпизоотической вспышки среди диких и домашних птиц в окрестностях Комсомольска-на-Амуре в октябре 2022 года.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эпизоотические данные были получены сотрудниками филиала «Комсомольская городская станция по борьбе с болезнями животных» КГБУ «Хабаровская городская станция по борьбе с болезнями животных», КГБУ «Хабаровская краевая ветеринарная лаборатория» и ФГБУ «Приморская межобластная ветеринарная лаборатория» в процессе осуществления ветеринарных исследований, локализации вспышки заболевания среди птиц, ликвидации её последствий и предотвращения распространения эпизоотии.

Патологоанатомическое обследование тушек птиц проводили в соответствие с общепринятыми протоколами [42; 43].

Половой материал – пулы внутренних органов (фрагментов легкого, мозга, кишечника и сустава крови) от 6 особей (♀) домашних кур (*Gallus gallus domesticus*) и 1 особи (♂) сибирского ворона (*Corvus corax kamtschaticus*) – были собраны с соблюдением требований биологической безопасности в 2 мл криопробирки (Biologix, KHP), которые транспортировались в сосудах Дьюара с жидким азотом (-196 °C) и после камеральной обработки без разрыва холодовой цепочки хранились в низкотемпературном холодильнике (-80 °C) вплоть до проведения исследований [42].

Индикация РНК вируса гриппа А осуществлялась методом ПЦР с помощью наборов «АмплиСенс® Influenza A/B-Fl» и «АмплиСенс® Influenza virus A-тип – Н5, Н7, Н9-Fl» согласно инструкции производителя (ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия).

Реакция гемагглютинации (РГА) проводилась в полистироловых 96-луночных планшетах с

У-образным дном с использованием 0,25–0,50 % взвеси куриных эритроцитов в фосфатно-солевом буфере [44].

Изоляция вируса гриппа А проводилась в сертифицированных условиях в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора (НИИЭМ) (Владивосток) [45] путем инокуляции 10 % суспензии пуллов внутренних органов в аллантоисную полость 9-дневных развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ) [44]; проводили три пассажа с использованием трёх РКЭ на одну пробу в каждом пассаже. После 3-го пассажа в РКЭ определяли титр в РКЭ и инфекционный титр вируса по схеме Рида и Менча [46] на основе цитопатогенного действия в клеточной линии почки эмбриона свиньи (СПЭВ) на 5-ые сутки после заражения.

Секвенирование генома вируса гриппа А проводили посредством нанопоровой технологии на приборе MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) с использованием наборов «Рибо-преп», «Реверта-L» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия), ДНК-полимеразы Thermo Scientific™ DreamTaq™ Hot Start DNA Polymerase Master Mix (Thermo Fisher Scientific, США) и описанной ранее системы праймеров [47]. При наличии непрочитанных в MinION фрагментов их дополнительно секвенировали по Сэнгеру на приборе Honor-1616 (Nanjing Superears Gene Technology, КНР) с помощью соответствующих пар праймеров из той же системы. Верификация ампликонов проводилась электрофорезом в 1 % агарозном геле.

Биоинформационный анализ осуществляли с помощью коммерческих программных продуктов: обработка результатов секвенирования и сборка геномов – CLC Sequence Viewer (Qiagen, Нидерланды) и Unipro UGENE (УНИПРО, Россия); выравнивание нуклеотидных последовательностей (по алгоритму Clustal W) и построение филогенетических деревьев (по алгоритму «ближайшего соседа») – Mega 7.0 [48]. Обозначения генетических групп и подгрупп приводятся согласно [20] с учётом последних рекомендаций Рабочей группы «Collaboration on H5 Antigenic Cartography», доступных на сайте GISAID (www.gisaid.org).

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика эпизоотии среди диких птиц отсчитывается от февраля 2022 г., когда на городской свалке и в ее окрестностях произошёл массовый падёж восточных черных ворон (*Corvus corone orientalis*), во внутренних органах которых с помощью ПЦР был обнаружен генетический материал вируса гриппа А подтипа H5, однако биологический материал для вирусологических исследований в НИИЭМ (Владивосток) не доставлялся. Весной и летом 2022 г. в окрестностях Комсомольска-на-Амуре имела место спорадическая гибель птиц, что стало предметом повышенного внимания органов санитарно-ветеринарного надзора и информирования населения о необходимости соблюдать меры предосторожности.

24.10.2024 на птицефабрике «Комсомольская», расположенной в северо-западной части Комсомольска-на-Амуре, был зафиксирован аномально высокий отход кур-несушек. Сотрудники Комсомольской городской станции по борьбе с болезнями животных на основании патологоанатомического вскрытия поставили предварительный диагноз «высокопатогенный грипп птиц».

Пробы биологического материала были направлены в Приморскую межобластную ветеринарную лабораторию (Уссурийск), и 27.10.2022 в них было подтверждено наличие генетического материала вируса гриппа А подтипа H5. В период 31.10–23.12.2022 на птицефабрике «Комсомольская» действовал режим чрезвычайной ситуации, было уничтожено порядка 500 тыс. голов кур и 1,2 млн. яиц, а из торговых точек отзовали всю продукцию, поставленную, начиная с 01.10.2022. В 6 км зоне вокруг птицефабрики проводился отстрел диких птиц в рамках проведения эколого-вирусологического мониторинга, в ходе которого и был добыт сибирский ворон, наряду с тушками кур доставленный в НИИЭМ.

Патологоанатомическое обследование тушек птиц выявило диссеминированные кровоизлияния в тканях легкого, внутриальвеолярную экссудацию, отек легких. Сосуды, обеспечивающие кровоснабжение легких, были расширены, кровь сгущена. Клиническая картина гипоксии была выражена в бледности кожных покровов и слизистых оболочек, уменьшении кровотока во внутренних органах, главным образом в кишечнике за счет гиперкоагуляции.

Индикация РНК вируса гриппа А в полевом материале была положительна в отношении гемагглютинина подтипа H5 (табл. 1).

Изоляция вируса гриппа А на модели РКЭ привела к получению 7 штаммов вируса гриппа А (табл. 1), которые вызывали гибель РКЭ через 1 сут. после инокуляции, а цитопатическое действие (ЦПД) в клеточной линии СПЭВ проявлялось через 2 сут. после заражения (рис. 1).

Анализ генома выделенных штаммов показал, что они принадлежат субтипу H5N1. Полноразмерные нуклеотидные последовательности всех сегментов вирусного генома были размещены на национальной российской платформе VGARus и депонированы в международные базы генетических данных GenBank и GISAID (табл. 1). Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гемагглютинина позволил классифицировать выделенные штаммы к генетической подгруппе 2.3.4.4b (рис. 2). Сайт протеолитического расщепления гемагглютинина обогащен положительно-заряженными аминокислотами (табл. 2), что является молекулярным маркером принадлежности к HPAI.

ОБСУЖДЕНИЕ

Массовая гибель ворон в феврале, до начала сезонных миграций птиц водно-околоводного экологического комплекса, свидетельствует о циркуляции возбудителя непосредственно в популяциях местных птиц. Восточная черная ворона не относится к перелетным птицам, но совершает ближние миграции, превращаясь в характерного для юга российского Дальнего Востока синантропа, в значительных количествах заселяющего свалки в окрестностях населенных пунктов [49; 50]. Эпизоотии, развивающиеся в крупных скоплениях птиц наземного и кустарникового экологических комплексов вокруг населенных пунктов в зимний период, описаны научной литературе для HPAI Ирано-Северокавказской подгруппы из генетической линии 2.2.2 [4], однако для Евразийско-Американской подгруппы 2.3.4.4 такие данные в условиях Дальнего Востока зафиксированы впервые.

Таблица 1. Результаты изоляции и идентификации штаммов вируса гриппа A H5N1 от диких и сельскохозяйственных птиц из эпидемической вспышки в Комсомольске-на-Амуре осенью 2022 г.

Table 1. Results of isolation and identification of influenza A H5N1 virus strains from wild and farm birds from the epidemic outbreak in Komsomolsk-on-Amur in autumn 2022

Штамм / Strain	Источник изоляции Source of isolation	3-й пассаж				Результаты секвенирования полного генома Complete genome sequencing results			
		3-d passage in DCE	в РКЭ C _T в ПЦР C _T in PCR	СПЭВ / SPEV	VIGARus	GenBank	GISAID		
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3350/2022 (H5N1)	Домашняя курица Chicken (<i>Gallus gallus domesticus</i>), ♀	26,1	+	8	26,1	+++	4	6,0	9,3
		C _T в ПЦР C _T in PCR	C _T в ПЦР C _T in PCR	CПД CPE	death of DCE	titre in HAT	-lg(TCID ₅₀ /ml)	titre in HAT	-lg(TCID ₅₀ /ml)
					TRNP a PFA				
					TRNP b PFA				
					death in HAT				
					titre in HAT				
					-lg(TCID ₅₀ /ml)				
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3353/2022 (H5N1)	Домашняя курица Chicken (<i>Gallus gallus domesticus</i>), ♀	16,9	+	8	16,9	+++	4	5,3	8,3
		C _T в ПЦР C _T in PCR	C _T в ПЦР C _T in PCR	CПД CPE	death of DCE	titre in HAT	-lg(TCID ₅₀ /ml)	titre in HAT	-lg(TCID ₅₀ /ml)
					TRNP a PFA				
					TRNP b PFA				
					death in HAT				
					titre in HAT				
					-lg(TCID ₅₀ /ml)				
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3354/2022 (H5N1)	Домашняя курица Chicken (<i>Gallus gallus domesticus</i>), ♀	8,1	+	8	15,9	+++	4	7,5	7,1
		C _T в ПЦР C _T in PCR	C _T в ПЦР C _T in PCR	CПД CPE	death of DCE	titre in HAT	-lg(TCID ₅₀ /ml)	titre in HAT	-lg(TCID ₅₀ /ml)
					TRNP a PFA				
					TRNP b PFA				
					death in HAT				
					titre in HAT				
					-lg(TCID ₅₀ /ml)				

A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3404/2022 (H5N1)	Домашняя курица Chicken (<i>Gallus gallus domesticus</i>), ♀	12,6	+	8	16,1	++++	4	5,3	7,7
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3406/2022 (H5N1)	Домашняя курица Chicken (<i>Gallus gallus domesticus</i>), ♀	7,1	+	8	14,1	++++	4	7,5	9,4
A/carrion crow/Komsomolsk-na-Amure/FE-3413/2022 (H5N1)	Сибирский ворон Siberian raven (<i>Corvus corax kamtschatanicus</i>), ♂	18,4	+	8	12,1	++++	4	3,5	10,4

Примечание / Note: ПЦР – полимеразная цепная реакция / polymerase chain reaction; РГА / НАТ – реакция гемагглютинации / hemagglutination test;
РКЭ / DCE – размножающиеся куриные эмбрионы / developing chicken embryo; СПЭВ / SPEV – линия клеток почки эмбриона свиньи / swine embryo kidney cell line;
ЧПД / CPE – цитопатическое действие (++++ означает гибель 80–100 % клеток) / cytopathic effect (++++ means the death of 80–100 % of cells);
C_T – пороговое чистота циклов / cycle threshold; TCID₅₀ – 50 % инфекционная доза на модели клеточной культуры / 50 % tissue culture infection dose

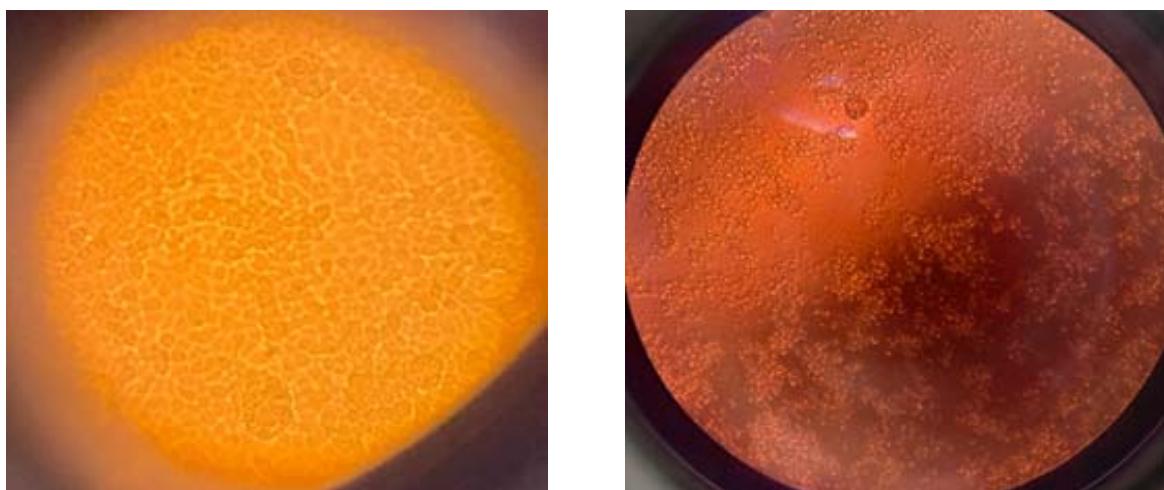


Рисунок 1. Клеточная линия СПЭВ: слева – интактная через 3 сут. после пересева; справа – через 3 сут. после пересева и 2 сут. после инокуляции штаммом A/carrion crow/Komsomolsk-na-Amure/FE-3413/2022 (H5N1)

Figure 1. SPEV cell line: on the left – intact one 3 days after the passage; on the right – 3 days after the passage and 2 days after inoculation with the strain A/carrion crow/Komsomolsk-na-Amure/FE-3413/2022 (H5N1)

Таблица 2. Аминокислотная последовательность сайта протеолитического расщепления

гемагглютинина изолированных штаммов (тире означает соответствие консенсусу)

Table 2. Amino acid sequence of the hemagglutinin proteolytic cleavage site of isolated virus strains
(a dash indicates compliance with the consensus)

Номер аминокислотного остатка Amino acid residue number	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339
Консенсус / Consensus	L	R	N	S	P	H	R	E	R	R	R	K	K	R	G	L	F	G
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3350/2022 (H5N1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	R	—	—	—	—	—	—
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3352/2022 (H5N1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3353/2022 (H5N1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3354/2022 (H5N1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3404/2022 (H5N1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A/chicken/Komsomolsk-na-Amure/FE-3406/2022 (H5N1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
A/carrion crow/Komsomolsk-na-Amure/FE-3413/2022 (H5N1)	—	—	—	—	—	—	Q	—	—	—	—	—	K	—	—	—	—	—

Дикие птицы стали наиболее вероятным источником заражения кур на птицефабрике «Комсомольская» [51] несмотря на все принятые меры предосторожности в связи с эпизоотией среди диких птиц. Как показывает опыт эпизоотии HPAI H5N1 в Северной Евразии, начиная с 2005 г., мелким и средним хозяйствам крайне сложно полностью изолировать сельскохозяйственных птиц от вирусных контаминаций со стороны диких птиц при массовых скоплениях последних [4; 17–19; 32; 34]. Известен случай, когда эпизоотическая вспышка HPAI в зимний период была вызвана завозом зараженных птиц на Птичий рынок в Москве [24], однако в рассматриваемом случае подобная ситуация была исключена.

Ворон – несмотря на свой интеллект и способность к социализации [52] – менее стайный вид по сравнению с вороной, но и он в зимний период формирует скопления и встречается в одних местах обитания с другими крупными врановыми (Corvidae) [50]. Ворон, из биологического материала которого был изолирован штамм A/carrion crow/Komsomolsk-na-Amure/FE-3413/2022 (табл. 1), был добыт примерно в 4,5 км от границ

птицефабрики в природных условиях в ходе мониторингового отстрела диких птиц. Это иллюстрирует тезис о том, что вирус гриппа А глубоко проник в популяции местных птиц и формирует не только сезонные, но и постоянные устойчивые природные очаги [53] на территории российского Дальнего Востока. До сих пор круглогодичное нахождение вируса А в природных очагах Северной Евразии¹ обсуждалось в связи с либо LPAI в наземных птицах (например, среди обыкновенных фазанов (*Phasianus colchicus*) в Приморском крае [54]), либо вмерзанием вируса в ледовый покров водоемов [55]. Выявленная интенсификация циркуляции HPAI резко повышает вероятность реассортации, приводящей к появлению патогенов с измененными биологическими свойствами [1–3; 22; 33].

¹ Здесь следует уточнить, что ближние зимовочные ареалы птиц водно-околоводного экологического комплекса не относятся к Северной Евразии – например, упомянутая в статье южная часть Корейского п-ва относится к Восточной Азии; то же справедливо для Южной Европы и Ближнего Востока / It should be clarified here that the near-wintering ranges of birds of the aquatic ecological complex do not belong to Northern Eurasia – for example, the Southern part of the Korean Peninsula mentioned in the article belongs to East Asia; the same is true for Southern Europe and the Middle East.

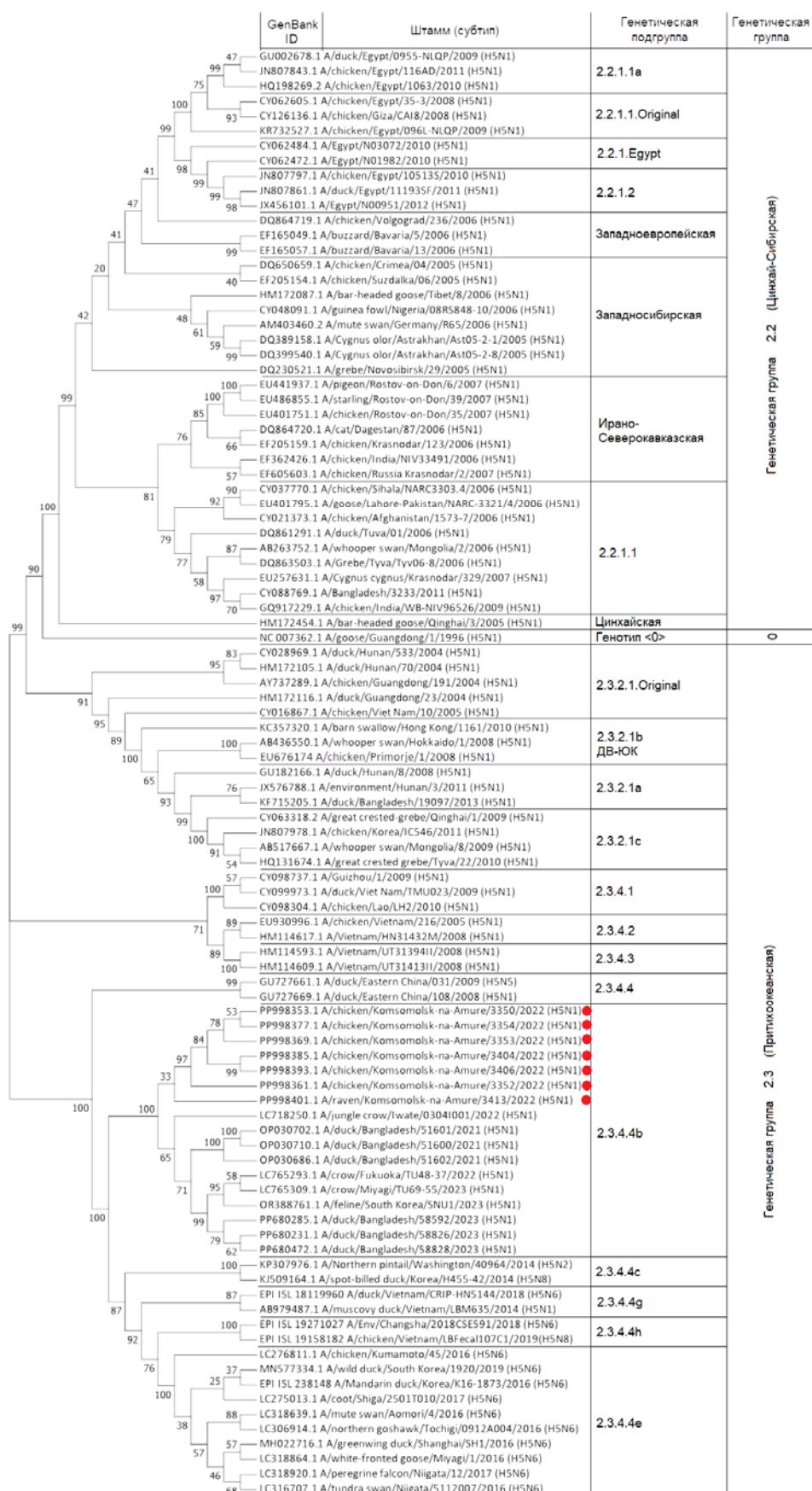


Рисунок 2. Иерархическая структура нуклеотидных последовательностей полноразмерных генов гемагглютинина основных генетических групп, сформировавшихся в процессе современной панзоотии HPAI H5Nx. Штаммы, изолированные в процессе расшифровки эпизоотической вспышки в Комсомольске-на-Амуре осенью 2022 г., отмечены красными кружками

Figure 2. Hierarchical structure of nucleotide sequences of complete hemagglutinin genes of the main genetic groups formed in the process of the modern HPAI H5Nx panzootics. Virus strains isolated during decoding of the epizootic outbreak in Komsomolsk-on-Amur in the autumn of 2022 are marked with red circles

Генетическая подгруппа 2.3.3.4b субтипа H5N1, которой принадлежат вирусные варианты, вызвавшие эпизоотическую вспышку в окрестностях Комсомольска-на-Амуре осенью 2022 г., сформировалась осенью 2020 г. в Европе (прототип A/Eurasian wigeon/Netherlands/1/2020) в результате реассортаций вариантов H5N8 (A/chicken/Iraq/1/2020) и H5N1 (A/black-headed gull/Atyrau/6558/2015) [56]. В следующем году 2.3.3.4b весной проник в Сибирь, а осенью – в зимовочный ареал на территории Юго-Восточной Азии [57; 58]. Тогда же, осенью 2021 г. перелетные птицы, по-видимому, занесли 2.3.3.4b в нижнее течение Амура вдоль одного из ответвлений Дальневосточно-Притихоокеанского миграционного русла. Вирус закрепился в популяции местных врановых и во время их массового скопления в феврале 2022 г. на свалке в Комсомольске-на-Амуре и началась описываемая эпизоотия.

Нейраминидаза подтипа N1 выделенных штаммов (табл. 1) имеет увеличенную длину (471 а.о. вместо обычной 450 а.о. для генотипа <Z>) за счет 20-членной вставки в позициях 49–68 и точечной вставки C140. Данная модификация удлиняет «ножку» молекулы NA и рассматривается как маркер повышения репликативной активности в эпителиоцитах птиц [22; 28]. Вариант N1, близкий к изолированным штаммам, был обнаружен еще в апреле 2015 г. у озерной чайки в окрестностях Гурьева (Казахстан): A/black-headed gull/Atyrau/6558/2015 (H5N1), GenBank PP411214. Проникнув затем вдоль миграционных путей на территорию Европы, этот вариант принял участие в формировании генетической подгруппы 2.3.4.4b (см. выше).

Рецептор-связывающий сайт гемагглютинина изолированных штаммов (табл. 2) не имеет аминокислотных замен, свидетельствующих о повышении аффинности по отношению к α 2-6-сиалозидам, что является маркером специфичности к клеткам эпителия верхних отделов респираторного тракта человека [3; 28; 32; 33].

Сайт протеолитического расщепления гемагглютинина, обогащенный положительно заряженными аминокислотами, что характерно для HPAI-фенотипа, соответствует вариантами этого фрагмента, встречающихся у штаммов Евразийско-Американской генетической подгруппы 2.3.4.4 [20; 35; 38]. Однако 2 из 7 аминокислотных последовательностей (28,6 %) имели замены относительно консенсуса для рассматриваемой эпизоотической вспышки. При этом, даже в штаммах от кур в 16,7 % штаммов имелась аминокислотная замена K333R, повышающая положительный заряд и уровень патогенности вируса. Штамм от ворона содержал одновременно две аминокислотные замены, H327Q и R335K, несколько снижающие суммарный положительный заряд сайта протеолитического разрезания. Полученные данные свидетельствуют о гетерогенности уровня патогенности возбудителя с его снижением в популяциях диких птиц – такая понижающая вирулентность динамика была ранее отмечена для Тувинско-Сибирской (2.2.2.1), Ирано-Северокавказской и Дальневосточно-Южноитайской (2.3.2.1b) генетических подгрупп [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, генетическая подгруппа 2.3.4.4 HPAI H5N1 (особенно 2.3.4.4b) продолжает активно циркулировать в Восточной Азии, в частности – на юге российского

Дальнего Востока – что требует поддержания достаточного уровня готовности к возможному обострению ситуации в области биологической безопасности: постоянной настороженности со стороны надзорных органов; неукоснительного исполнения требований нормативных документов учреждениями и организациями, занятыми в сфере сельского хозяйства и природопользования; проведения в регионе регулярного эколого-вирусологического мониторинга с направлением биологического материала как в центральные, так и региональные научно-исследовательские учреждения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Львов Д.К., Ямникова С.С., Федякина И.Т., Аристова В.А., Львов Д.Н., Ломакина Н.Ф., Петрова Е.С., Злобин В.И., Хаснатинов М.А., Чепургина Е.А., Ковтунов А.И., Джаркенов А.Ф., Санков М.Н., Леонова Г.Н., Маслов В.А., Щелканов М.Ю., Непоклонов Е.А., Алипер Т.И. Экология и эволюция вирусов гриппа в России (1979–2002 гг.) // Вопросы вирусологии. 2004. Т. 49. № 3. С. 17–24.
2. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Грипп: история, клиника, патогенез // Лечащий врач. 2011. № 10. С. 33–38.
3. Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Генотипическая структура рода Influenza A virus // Вестник Российской академии медицинских наук. 2011. № 5. С. 19–23.
4. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Прилипов А.Г., Дерябин П.Г., Федякина И.Т., Галкина И.В., Киреев Д.Е., Фролов А.В., Аканина Д.С., Усачёва О.В., Шляпникова О.В., Поглазов А.Б., Морозова Т.Н., Прошина Е.С., Гребенникова Т.В., Забережный А.Д., Яковлев С.С., Щербакова Л.О., Шаповалов А.В., Жалин М.В., Руденко В.П., Пичуев А.Е., Литвин К.Е., Варкентин А.В., Стешенко В.В., Харитонов С.П., Прошина Е.С., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Алипер Т.И., Мартыновченко В.В., Лысенко С.Н., Власов Н.А., Непоклонов Е.А. Расшифровка эпизоотической вспышки среди диких и домашних птиц на юге европейской части России в декабре 2007 г. // Вопросы вирусологии. 2008. Т. 53. № 4. С. 18–23.
5. Nagarajan S., Tosh C., Murugkar H.V., Venkatesh G., Katare M., Jain R., Behera P., Khandia R., Tripathi S., Kulkarni D.D., Dubey S.C. Isolation and molecular characterization of a H5N1 virus isolated from a Jungle crow (*Corvus macrohynchos*) in India. *Virus Genes*, 2010, vol. 41, no. 1, pp. 30–36. <https://doi.org/10.1007/s11262-010-0477-4>
6. Poertranto E.D., Yamaoka M., Nastri A.M., Krisna L.A., Rahman M.H., Wulandari L., Yudhawati R., Ginting T.E., Makino A., Shinya K., Kawaoka Y. An H5N1 highly pathogenic avian influenza virus isolated from a local tree sparrow in Indonesia. *Microbiology and Immunology*, 2011, vol. 55, no. 9, pp. 666–672. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00361.x>
7. Gulyaeva M., Sharshov K., Suzuki M., Sobolev I., Sakoda Y., Alekseev A., Sivay M., Shestopalova L., Shchelkanov M., Shestopalov A. Genetic characterization of an H2N2 influenza virus isolated from a muskrat in Western Siberia. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2017, vol. 79, no. 8, pp. 1461–1465. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0048>
8. Gulyaeva M., Sobolev I., Sharshov K., Kurskaya O., Alekseev A., Shestopalova L., Kovner A., Bi Y., Shi W., Shchelkanov M., Shestopalov A. Characterization of Avian-like Influenza A (H4N6) Virus Isolated from Caspian Seal in 2012. *Virologica Sinica*, 2018, vol. 33, no. 5, pp. 449–452. <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0053-y>

9. Gadzhiev A., Petherbridge G., Sharshov K., Sobolev I., Alekseev A., Gulyaeva M., Litvinov K., Boltunov I., Teymurov A., Zhigalin A., Daudova M., Shestopalov A. Pinnipeds and avian influenza: a global timeline and review of research on the impact of highly pathogenic avian influenza on pinniped populations with particular reference to the endangered Caspian seal (*Pusa caspica*). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2024, vol. 14, id: 1325977. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1325977>
10. Sobolev I., Gadzhiev A., Sharshov K., Ohlopkova O., Stolbunova K., Fadeev A., Dubovitskiy N., Glushchenko A., Irza V., Perkovsky M., Litvinov K., Meshcheriakova N., Petherbridge G., Shestopalov A. Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus-induced mass death of wild birds, Caspian Sea, Russia, 2022. *Emerging Infectious Diseases*, 2023, vol. 29, no. 12, pp. 2528–2532. <https://doi.org/10.3201/eid2912.230330>
11. World Health Organization. Avian Influenza Weekly Update Number 954. 05.07.2024. URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avian-influenza/ai_20240705.pdf?sfvrsn=5f006f99_137 (дата обращения: 16.07.2024)
12. Xu X., Subbarao K., Cox N.J., Guo Y. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/goose/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology*, 1999, vol. 261, no. 1, pp. 15–19. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9820>
13. Li K.S., Guan Y., Wang J., Smith G.J., Xu K.M., Duan L., Rahardjo A.P., Puthavathana P., Buranathai C., Nguyen T.D., Estoepangestie A.T., Chaisengh A., Auewarakul P., Long H.T., Hanh N.T., Webby R.J., Poon L.L., Chen H., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Webster R.G., Peiris J.S. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*, 2004, vol. 430, pp. 209–213. <https://doi.org/10.1038/nature02746>
14. Разумова Ю.В., Щелканов М.Ю., Дурыманова А.А., Золотых С.И., Терновой В.А., Славский А.А., Юрлов А.К., Беклемишев А.Б., Шестопалов А.М., Львов Д.К. Молекулярно-генетическое разнообразие вируса гриппа А в популяциях диких птиц на юге Западной Сибири // Вопросы вирусологии. 2005. Т. 50. № 4. С. 31–35.
15. Разумова Ю.В., Щелканов М.Ю., Золотых С.И., Дурыманова А.А., Терновой В.А., Беклемишев А.Б., Славский А.А., Юрлов А.К., Шестопалов А.М., Львов Д.К., Нетесов С.В. Результаты мониторинга вируса гриппа А в популяциях диких птиц на юге Западной Сибири (данные 2003 г.) // Вопросы вирусологии. 2006. Т. 51. № 3. С. 32–37.
16. Chen H., Li Y., Li Z., Shi J., Shinya K., Deng G. Properties and dissemination of H5N1 viruses isolated during an influenza outbreak in migratory waterfowl in Western China. *Journal of Virology*, 2006, vol. 80, no. 12, pp. 5976–5983.
17. Щелканов М.Ю., Власов Н.А., Киреев Д.Е., Славский А.А., Гребенникова Т.В., Прилипов А.Г., Забережный А.Д., Алипер Т.И., Кирюхин С.Т., Петренко М.С., Крашенинников О.П., Непоклонов Е.А., Онищенко Г.Г., Дерябин П.Г., Львов Д.К. Клинические признаки заболевания у птиц, вызванного высокопатогенными вариантами вируса гриппа A/H5N1, в эпизентре эпизоотии на юге Западной Сибири (июль 2005 г.) // Журнал инфекционной патологии. 2005. Т. 12. № 3-4. С. 121–124.
18. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Гребенникова Т.В., Прилипов А.Г., Непоклонов Е.А., Онищенко Г.Г., Власов Н.А., Алипер Т.И., Забережный А.Д., Киреев Д.Е., Славский А.А., Крашенинников О.П., Непоклонов Е.А., Онищенко Г.Г., Кирюхин С.Т., Петренко М.С., Губанова Е.И., Бурцева Е.И., Слепушкин А.Н. Изоляция штаммов вируса гриппа A/H5N1 от домашних и диких птиц в период эпизоотии в Западной Сибири (июль 2005 г.) и их депонирование в Государственную Коллекцию вирусов РФ (08 августа 2005 г.) // Вопросы вирусологии. 2006. Т. 51. № 1. С. 11–14.
19. Онищенко Г.Г., Шестопалов А.М., Терновой В.А., Евсеенко В.А., Дурыманов А.Г., Рассадкин Ю.Н., Разумова Ю.В., Зайковская А.В., Золотых С.И., Нетесов С.В., Сандахчиев Л.С. Выявление в Западной Сибири высокопатогенных H5N1-вирусов гриппа, генетически родственных вирусам, циркулирующим в Юго-Восточной Азии в 2003–2005 гг. // Доклады Академии наук. 2006. Т. 406. № 2. С. 278–280.
20. Щелканов М.Ю., Кириллов И.М., Шестопалов А.М., Литвин К.Е., Дерябин П.Г., Львов Д.К. Эволюция вируса гриппа A / H5N1 (1996–2016) // Вопросы вирусологии. 2016. Т. 61. № 6. С. 7–18. <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-6-245-256>
21. Jameel S. The birds are coming: are we ready? Indian Journal of Medical Research. 2005, vol. 122, no. 4, pp. 277–281.
22. Киселев О.И., Блинов В.М., Писарева М.М., Терновой В.А., Агафонов А.П., Сараев Д.В., Еропкин М.Ю., Лобова Т.Г., Григорьева В.А., Грудинин М.П. Изоляты вируса гриппа подтипа H5N1, выделенные от домашней птицы в Курганской области в 2005 году: молекулярно-генетическая характеристика // Молекулярная биология. 2008. Т. 42. № 1. С. 78–87.
23. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Бурцева Е.И., Галкина И.В., Гребенникова Т.В., Прилипов А.Г., Усачёв Е.В., Ляпнина О.В., Шляпникова О.В., Поглазов А.Б., Славский А.А., Морозова Т.Н., Васильев А.В., Забережный А.Д., Джаркенов А.Ф., Габбасов Ф.Б., Евдокимова М.И., Алипер Т.И., Литвин К.Е., Громашевский В.Л., Власов Н.А., Яшкулов К.Б., Ковтунов А.И., Онищенко Г.Г., Непоклонов Е.А., Suarez D.L. Эпизоотия среди лебедей-шипунов (*Cygnus olor*) в нижней дельте Волги (ноябрь 2005 г.), вызванная высокопатогенным вирусом гриппа A / H5N1 // Вопросы вирусологии. 2006. Т. 51. № 3. С. 10–16.
24. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Прилипов А.Г., Дерябин П.Г., Акания Д.С., Галкина И.В., Гребенникова Т.В., Федкина И.Т., Альховский С.В., Усачёва О.В., Киреев Д.Е., Славский А.А., Стариков Н.С., Петренко М.С., Михайлова В.В., Усачёв Е.В., Садыкова Г.К., Морозова Т.Н., Самохвалов Е.И., Юдин А.Н., Виткова О.Н., Щербакова Л.О., Забережный А.Д., Калмыков М.В., Громашевский В.Л., Алипер Т.И., Яковлев С.С., Власов Н.А., Непоклонов Е.А., Suarez D. Молекулярно-генетическая характеристика штамма A/chicken/Moscow/2/2007 (H5N1) из очага эпизоотии высокопатогенного гриппа А среди сельскохозяйственных птиц в Подмосковье (февраль 2007 г.) // Вопросы вирусологии. 2007. Т. 52. № 6. С. 40–47.
25. Globig A., Staubach C., Beer M., Köppen U., Fiedler W., Nieburg M., Wilking H., Starick E., Teifke J.P., Werner O., Unger F., Grund C., Wolf C., Roost H., Feldhusen F., Conraths F.J., Mettenleiter T.C., Harder T.C. Epidemiological and ornithological aspects of outbreaks of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 of Asian lineage in wild birds in Germany, 2006 and 2007. *Transboundary Emerging Diseases*, 2009, vol. 56, no. 3, pp. 57–72. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2008.01061.x>
26. Mayor S. Link between H5N1 in UK and recent outbreaks in Hungary is investigated. *British Medical Journal*, 2007, vol. 334, id: 335. <https://doi.org/10.1136/bmj.39126.366076.DB>

27. Escoria M., Attene-Ramos M.S., Estrada M.J., Nava G.M. Improving global influenza surveillance: trends of A (H5N1) virus in Africa and Asia. *British Medical Journal Research Notes*, 2012, 5, id: 62. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-62>
28. Щелканов М.Ю., Прилипов А.Г., Львов Д.К., Федякина И.Т., Казарян А.С., Галкина И.В., Морозова Т.Н., Кушнир А.Т., Власов Н.А., Дерябин П.Г. Динамика вирулентности штаммов высоковирулентного вируса гриппа А / H5N1 генотипа 2.2, изолированных на территории России в 2005–2007 гг. // Вопросы вирусологии. 2009. Т. 54. N 2. С. 8–17.
29. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Прилипов А.Г., Фролов А.В., Федякина И.Т., Бурцева Е.И., Шляпникова О.В., Поглазов А.Б., Альховский С.В., Галкина И.В., Иголкин А.В., Аканина Д.С., Гребенникова Т.В., Киреев Д.Е., Варкентин А.В., Славский А.А., Морозова Т.Н., Самохвалов Е.И., Литвин К.Е., Виткова О.Н., Щербакова Л.О., Ирза В.Н., Дрыгин В.В., Калмыков М.В., Фонтанецкий А.С., Забережный А.Д., Шевкопляс В.Н., Митенко Е.А., Щербина И.А., Алипер Т.И., Громашевский В.Л., Власов Н.А., Непоклонов Е.А., Suarez D. Эпизоотия среди диких и домашних птиц, вызванная высоковирулентным вирусом гриппа А / H5N1 генотипа 2.2 (Цинхай–Сибирский) на пути осенних миграций в северо-восточной части бассейна Азовского моря (Краснодарский край) // Вопросы вирусологии. 2008. Т. 53. N 2. С. 14–19.
30. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерябин П.Г., Федякина И.Т., Бурцева Е.И., Прилипов А.Г., Киреев Д.Е., Усачев Е.В., Алипер Т.И., Забережный А.Д., Гребенникова Т.В., Галкина И.В., Славский А.А., Литвин К.Е., Донгур-оол А.М., Медведев Б.А., Докпер-оол М.Д., Монгуш А.А., Арапчор М.Ш., Кенден А.О., Власов Н.А., Непоклонов Е.А., Suarez D. Изоляция высокопатогенных (HPAI) штаммов вируса гриппа А/H5N1 от диких птиц в очаге эпизоотии на озере Убсу-Нур (июнь 2006 г.) и их депонирование в Государственную Коллекцию вирусов РФ (03 июля 2006 г.) // Вопросы вирусологии. 2006. Т. 51. N 6. С. 14–18.
31. Шестопалов А.М., Шаршов К.А., Соболев И.А., Варкентин А.В., Юшков Ю.Г., Леонов С.В., Галкина И.В., Арчимаева Т.П., Ирза В.Н., Щелканов М.Ю., Гаджиев А.А., Магомедова М.З. Итоги многолетнего мониторинга вируса гриппа А птиц на озере Убсу-Нур // Юг России: экология, развитие. 2016. Т. 11. N 3. С. 106–119. <http://dx.doi.org/10.18470/1992-1098-2016-3-106-119>
32. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Alkhovsky S.V., Zaberezhny A.D., Suares D. Evolution of HPAI H5N1 virus in Natural ecosystems of Northern Eurasia (2005–2008). *Avian Diseases*, 2010, vol. 54, no. 1, pp. 483–495. <http://dx.doi.org/10.1637/8893-042509-Review.1>
33. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology. Academic Press, 2015, 452 p.
34. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Власов Н.А., Прилипов А.Г., Дерябин П.Г., Федякина И.Т., Галкина И.В., Забережный А.Д., Ляпина О.В., Шляпникова О.В., Киреев Д.Е., Фесенко Е.Е., Калмыков М.В., Виткова О.Н., Морозова Т.Н., Прошина Е.С., Гребенникова Т.В., Аканина Д.С., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Волков В.А., Семёнов В.И., Гапонов В.В., Шмаков Н.И., Кушнир А.Т., Казарян А.С., Стариков Н.С., Петренко М.С., Славский А.А., Литвин К.Е., Щербакова Л.О., Фролов А.В., Манин Т.Б., Уманец О.А., Бандеев В.В., Хван А.М., Дунаев В.Г., Челедина Т.П., Абгарян С.Р., Михайлович В.М.,
- Заседателев А.С., Любченко Е.Н., Флягин В.Н., Тихонова И.Ф., Маслов Д.В., Ананьев В.Ю., Баранов Н.И., Гореликов В.Н., Яковлев С.С., Алипер Т.И., Непоклонов Е.А., Suarez D. Первый прорыв нового для России генотипа 2.3.2 высоковирулентного вируса гриппа А / H5N1 на Дальнем Востоке // Вопросы вирусологии. 2008. Т. 53. N 5. С. 4–8.
35. Kang H.M., Lee E.K., Song B.M., Jeong J., Choi J.G., Jeong J., Moon O.K., Yoon H., Cho Y., Kang Y.M., Lee H.S., Lee Y.J. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses among inoculated domestic and wild ducks, South Korea, 2014. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, vol. 21, no. 2, pp. 298–304. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2102.141268>
36. Saito T., Tanikawa T., Uchida Y., Takemae N., Kanehira K., Tsunekuni R. Intracontinental and intercontinental dissemination of Asian H5 highly pathogenic avian influenza virus (clade 2.3.4.4) in the winter of 2014–2015. *Reviews in Medical Virology*, 2015, vol. 25, no. 6, pp. 388–405. <http://dx.doi.org/10.1002/rmv.1857>
37. Marchenko V.Y., Susloparov I.M., Kolosova N.P., Goncharova N.I., Shipovalov A.V., Durymanov A.G., Ilyicheva T.N., Budatsirenova L.V., Ivanova V.K., Ignat'yev G.A., Ershova S.N., Tulyahova V.S., Mikheev V.N., Ryzhikov A.B. Influenza A (H5N8) virus isolation in Russia, 2014. *Archive Virology*, 2015, vol. 160, no. 11, pp. 2857–2860. <http://dx.doi.org/10.1007/s00705-015-2570-4>
38. Pasick J., Berhane Y., Joseph T., Bowes V., Hisanaga T., Handel K., Alexandersen S. Reassortant highly pathogenic influenza A H5N2 virus containing gene segments related to Eurasian H5N8 in British Columbia, Canada, 2014. *Scientific Reports*, 2015, vol. 5, id: 9484. <http://dx.doi.org/10.1038/srep09484>
39. Dunaeva M.N., Sharshov K.A., Sobolev I.A., Ledneva V.A., Pankratov D.V., Suroviy A.L., Galkina I.V., Fomenko P.V., Zhuravlev Yu.N., Shestopalov A.M., Shchelkanov M.Yu. North-Eastern Asia as a modern genetic subgroup generation center for highly pathogenic avian influenza A / H5 viruses (Orthomyxoviridae, Influenzavirus A). Abstract Book of the 1-st International Conference “North-East Asia Biodiversity” (Vladivostok, Russia; September 17–21, 2018). Vladivostok: The Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, 2018, pp. 28–29.
40. Bi Y., Li J., Li S., Fu G., Jin T., Zhang C., Yang Y., Ma Z., Tian W., Li J., Xiao S., Li L., Yin R., Zhang Y., Wang L., Qin Y., Yao Z., Meng F., Hu D., Li D., Wong G., Liu F., Lv N., Wang L., Fu L., Yang Y., Peng Y., Ma J., Sharshov K., Shestopalov A., Gulyaeva M., Gao G.F., Chen J., Shi Y., Liu W.J., Chu D., Huang Y., Liu Y., Liu L., Liu W., Chen Q., Shi W. Dominant subtype switch in avian influenza viruses during 2016–2019 in China. *Nature Communications*, 2020, vol. 11, no. 1, id: 5909. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-19671-3>
41. Mine J., Tsunekuni R., Tanikawa T., Uchida Y., Dubovitskiy N., Derko A., Sobolev I., Shestopalov A., Sharshov K., Saito T. Genetics of Japanese H5N8 high pathogenicity avian influenza viruses isolated in winter 2020–2021 and their genetic relationship with avian influenza viruses in Siberia. *Transboundary Emerging Diseases*, 2022, vol. 69, no. 5, pp. e2195–e2213. <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.14559>
42. Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В. Сбор хранение и транспортировка полевого материала // В кн.: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Руководство по вирусологии. Москва: Медицинское информационное агентство, 2013. С. 409–416.
43. Селезнев С.Б., Ветошкина Г.А., Кротова Е.А. Методические рекомендации по технике вскрытия птиц и исследованию органов иммунной системы. Москва: Арт-Сервис, 2016. 16 с.

44. Шубладзе А.К., Гайдамович С.Я. Краткий курс практической вирусологии. Москва: Медгиз, 1954. 380 с.
45. Запорожец Т.С., Беседнова Н.Н., Калинин А.В., Сомова Л.М., Щелканов М.Ю. 80 лет на страже биологической безопасности у восточных рубежей России // Здоровье населения и среда обитания. 2021. N 5. С. 5–15.
<http://dx.doi.org/10.35627/2219-5238/2021-338-5-5-15>
46. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. American Journal of Epidemiology. 1938, vol. 27, no. 3, pp. 493–497.
47. Дунаева М.Н., Щелканов М.Ю., Панкратов Д.В., Иунихина О.В., Крылова Н.В., Лубова В.А. Набор олигонуклеотидов-праймеров, используемых для идентификации вируса гриппа А // Заявка на патент РФ, N 2023127156, приоритет 24.10.2023.
48. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. *Computer Applications in Biosciences*, 1994, vol. 10, no. 2, pp. 189–191.
<http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/10.2.189>
49. Бурковский О.А., Курдюков А.Б. Материалы по сезонному питанию черной *Corvus corone* и большеклювой *C. macrorhynchos* ворон в Южном Приморье // Русский орнитологический журнал. 1997. Т. 19. С. 13–17.
50. Базарова А.С. Пространственно-временная дифференциация черной вороны и ворона в условиях Западного Забайкалья (на примере г. Улан-Удэ) // Вестник Бурятского государственного университета. 2014. N 4. С. 151–155.
51. Дунаева М.Н., Иунихина О.В., Домбровская И.Э., Белик А.А., Чаленко И.С., Потт А.Б., Мамошина М.Ю., Кокорев А.С., Мельников С.А., Панкратов Д.В., Щелканов М.Ю. Роль диких птиц в формировании эпизоотии гриппа А среди домашних кур в Комсомольске-на-Амуре (октябрь 2022 г.) // Материалы Национальной (Всероссийской) научно-практической конференции «Ветеринарные и биологические аспекты в диагностике и лечении диких животных», Уссурийск, 31 марта, 2023. С. 34–38.
52. Pika S., Bugnyar T. The use of referential gestures in ravens (*Corvus corax*) in the wild. *Nature Communications*, 2011, vol. 2, id: 560. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms1567>
53. Щелканов М.Ю., Аристова В.А., Чумаков В.М., Льзов Д.К. Историография термина «природный очаг». В кн.: Новые и возвращающиеся инфекции в системе биобезопасности Российской Федерации. Москва: Изд-во Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2014. С. 21–32.
54. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Льзов Д.Н., Киреев Д.Е., Гурьев Е.Л., Аканина Д.С., Галкина И.В., Аристова В.А., Москвина Т.М., Чумаков В.М., Баранов Н.И., Гореликов В.Н., Усачёв Е.В., Альховский С.В., Ляпина О.В., Поглазов А.Б., Шляпникова О.В., Бурухина Е.Г., Борисова О.Н., Федякина И.Т., Бурцева Е.И., Морозова Т.Н., Гренкова Е.П., Гребенникова Т.В., Прилипов А.Г., Самохвалов Е.И., Забережный А.Д., Коломеец С.А., Мирошников В.А., Оропай П.Л., Гапонов В.В., Семёнов В.И., Суслов И.О., Волков В.А., Ямникова С.С., Алипер Т.И., Дунаев В.Г., Громашевский В.Л., Маслов Д.В., Новиков Ф.Т., Власов Н.А., Дерябин П.Г., Непоклонов Е.А., Злобин В.И., Льзов Д.К. Комплексный эколого-вирусологический мониторинг на территории Приморского края (2003–2006) // Вопросы вирусологии. 2007. Т. 52. N 5. С. 37–48.
55. Zhang G., Shoham D., Gilichinsky D., Davydov S., Castello J.D., Rogers S.O. Evidence of influenza a virus RNA in Siberian lake ice. *Journal of Virology*, 2006, vol. 80, no. 24, pp. 12229–12235. <http://dx.doi.org/10.11218/JVI.00986-06>
56. Lewis N.S., Banyard A.C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., Byrne A., Meruyert Akberovna S., King J., Harder T., Grund C., Essen S., Reid S.M., Brouwer A., Zinyakov N.G., Tegzhanov A., Irza V., Pohlmann A., Beer M., Fouchier R.A.M., Akhmetzhan Akievich S., Brown I.H. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerging Microbes Infections*, 2021, vol. 10, no. 1, pp. 148–151.
<http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2021.1872355>
57. Barman S., Turner J.C.M., Kamrul Hasan M., Akhtar S., Jeevan T., Franks J., Walker D., Mukherjee N., Seiler P., Kercher L., McKenzie P., Webster R.G., Feeroz M.M., Webby R.J. Emergence of a new genotype of clade 2.3.4.4b H5N1 highly pathogenic avian influenza A viruses in Bangladesh. *Emerging Microbes Infections*, 2023, vol. 12, no. 2, id: e2252510.
<http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2023.2252510>
58. Sobolev I., Alekseev A., Sharshov K., Chistyeva M., Ivanov A., Kurskaya O., Ohlopkova O., Moshkin A., Derko A., Loginova A., Solomatina M., Gadzhiev A., Bi Y., Shestopalov A. Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus clade 2.3.4.4b infections in seals, Russia, 2023. *Emerging Infectious Diseases*, 2024, vol. 30, no. 10, pp. 2160–2164.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid3010.231728>

REFERENCES

1. Lvov D.K., Yamnikova S.S., Fedyakina I.T., Aristova V.A., Lvov D.N., Lomakina N.F., Petrova E.S., Zlobin V.I., Khasnatinov M.A., Chepurgina E.A., Kovtunov A.I., Dzharkenov A.F., Sankov M.N., Leonova G.N., Maslov V.A., Shchelkanov M.Yu., Nepoklonov E.A., Aliper T.I. Ecology and evolution of influenza viruses in Russia (1979–2002). *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2004, vol. 49, no. 3, pp. 17–24. (In Russian)
2. Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Influenza: history, clinic, pathogenesis. *Lechashchii vrach [The Practitioner]*. 2011, no. 10, pp. 33–38. (In Russian)
3. Shchelkanov M.Yu., Lvov D.K. Genotypic structure of the genus Influenza A virus. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2011, no. 5, pp. 19–23. (In Russian)
4. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Deryabin P.G., Fedyakina I.T., Galkina I.V., Kireev D.E., Frolov A.V., Akanina D.S., Usacheva O.V., Shlyapnikova O.V., Poglazov A.B., Morozova T.N., Proshina E.S., Grebennikova T.V., Zaberezhny A.D., Yakovlev S.S., Shcherbakova L.O., Shapovalov A.V., Zhalin M.V., Rudenko V.P., Pichuev A.E., Litvin K.E., Varkentin A.V., Steshenko V.V., Kharitonov S.P., Proshina E.S., Samokhvalov E.I., Alkhovsky S.V., Aliper T.I., Martynovchenko V.V., Lysenko S.N., Vlasov N.A., Nepoklonov E.A. Decoding of an epizootic outbreak among wild and domestic birds in the south of the European part of Russia in December 2007. *Voprosy Virusologii [Problems in Virology]*. 2008, vol. 53, no. 4, pp. 18–23. (In Russian)
5. Nagarajan S., Tosh C., Murugkar H.V., Venkatesh G., Katare M., Jain R., Behera P., Khandia R., Tripathi S., Kulkarni D.D., Dubey S.C. Isolation and molecular characterization of a H5N1 virus isolated from a Jungle crow (*Corvus macrorhynchos*) in India. *Virus Genes*, 2010, vol. 41, no. 1, pp. 30–36. <https://doi.org/10.1007/s11262-010-0477-4>
6. Poertranto E.D., Yamaoka M., Nastri A.M., Krisna L.A., Rahman M.H., Wulandari L., Yudhawati R., Ginting T.E., Makino A., Shinya K., Kawaoka Y. An H5N1 highly pathogenic avian influenza virus isolated from a local tree sparrow in

- Indonesia. *Microbiology and Immunology*, 2011, vol. 55, no. 9, pp. 666–672. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2011.00361.x>
7. Gulyaeva M., Sharshov K., Suzuki M., Sobolev I., Sakoda Y., Alekseev A., Sivay M., Shestopalova L., Shchelkanov M., Shestopalov A. Genetic characterization of an H2N2 influenza virus isolated from a muskrat in Western Siberia. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2017, vol. 79, no. 8, pp. 1461–1465. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0048>
8. Gulyaeva M., Sobolev I., Sharshov K., Kurskaya O., Alekseev A., Shestopalova L., Kovner A., Bi Y., Shi W., Shchelkanov M., Shestopalov A. Characterization of Avian-like Influenza A (H4N6) Virus Isolated from Caspian Seal in 2012. *Virologica Sinica*, 2018, vol. 33, no. 5, pp. 449–452. <https://doi.org/10.1007/s12250-018-0053-y>
9. Gadzhiev A., Petherbridge G., Sharshov K., Sobolev I., Alekseev A., Gulyaeva M., Litvinov K., Boltunov I., Teymurov A., Zhigalin A., Daudova M., Shestopalov A. Pinnipeds and avian influenza: a global timeline and review of research on the impact of highly pathogenic avian influenza on pinniped populations with particular reference to the endangered Caspian seal (*Pusa caspica*). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2024, vol. 14, id: 1325977. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1325977>
10. Sobolev I., Gadzhiev A., Sharshov K., Ohlopkova O., Stolbunova K., Fadeev A., Dubovitskiy N., Glushchenko A., Irza V., Perkovsky M., Litvinov K., Meshcheriakova N., Petherbridge G., Shestopalov A. Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus-induced mass death of wild birds, Caspian Sea, Russia, 2022. *Emerging Infectious Diseases*, 2023, vol. 29, no. 12, pp. 2528–2532. <https://doi.org/10.3201/eid2912.230330>
11. World Health Organization. Avian Influenza Weekly Update Number 954. 05.07.2024. URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avian-influenza/ai_20240705.pdf?sfvrsn=5f006f99_137 (available at: 16.07.2024)
12. Xu X., Subbarao K., Cox N.J., Guo Y. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/goose/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology*, 1999, vol. 261, no. 1, pp. 15–19. <https://doi.org/10.1006/viro.1999.9820>
13. Li K.S., Guan Y., Wang J., Smith G.J., Xu K.M., Duan L., Rahardjo A.P., Puthavathana P., Buranathai C., Nguyen T.D., Estoepangestie A.T., Chaisengh A., Auewarakul P., Long H.T., Hanh N.T., Webby R.J., Poon L.L., Chen H., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Webster R.G., Peiris J.S. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*, 2004, vol. 430, pp. 209–213. <https://doi.org/10.1038/nature02746>
14. Razumova Yu.V., Shchelkanov M.Yu., Duryanova A.A., Zolotykh S.I., Ternovoi V.A., Slavsky A.A., Yurlov A.K., Beklemishev A.B., Shestopalov A.M., Lvov D.K. Genetic Variety of Influenza A Virus in the Populations of Wild Birds in the South of Western Siberia. *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2005, vol. 50, no. 4, pp. 31–35. (In Russian)
15. Razumova Yu.V., Shchelkanov M.Yu., Zolotykh S.I., Duryanova A.A., Ternovoy V.A., Beklemishev A.B., Slavsky A.A., Yurlov A.K., Shestopalov A.M., Lvov D.K., Netesov S.V. The 2003 results of monitoring of influenza A virus in the populations of wild birds in the South of Western Siberia. *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2006, vol. 51, no. 3, pp. 32–37. (In Russian)
16. Chen H., Li Y., Li Z., Shi J., Shinya K., Deng G. Properties and dissemination of H5N1 viruses isolated during an influenza outbreak in migratory waterfowl in Western China. *Journal of Virology*, 2006, vol. 80, no. 12, pp. 5976–5983.
17. Shchelkanov M.Yu., Vlasov N.A., Kireev D.E., Slavsky A.A., Grebennikova T.V., Prilipov A.G., Zaberezhny A.D., Aliper T.I., Kiryukhin S.T., Petrenko M.S., Krasheninnikov O.P., Nepoklonov E.A., Onishchenko G.G., Deryabin P.G., Lvov D.K. Clinical Signs of Disease in Birds caused by Highly Pathogenic Variants of the Influenza A/H5N1 Virus in the Epicenter of Epizootics in the South of Western Siberia (July 2005). *Zhurnal infektsionnoi patologii [Journal of Infectious Pathology]*. 2005, vol. 12, no. 3–4, pp. 121–124. (In Russian)
18. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Deryabin P.G., Grebennikova T.V., Prilipov A.G., Nepoklonov E.A., Onishchenko G.G., Vlasov N.A., Aliper T.I., Zaberezhny A.D., Kireev D.E., Krascheninnikov O.P., Kiryukhin S.T., Burtseva E.I., Slepuschkin A.N. Isolation of Influenza A/H5N1 Virus Strains from Poultry and Wild Birds during Epizootic Outbreak in Western Siberia (July 2005) and their Incorporation in Russian State Collection of Viruses (August 08, 2005). *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2006, vol. 51, no. 1, pp. 11–14. (In Russian)
19. Onishchenko G.G., Shestopalov A.M., Ternovoy V.A., Evseenko V.A., Durymanov A.G., Rassadkin Yu.N., Razumova Yu.V., Zaikovskaya A.V., Zolotykh C.I., Netesov S.V., Sandakhchiev L.S. Identification of Highly Pathogenic H5N1 Influenza Viruses Genetically Related to Viruses in Western Siberia Circulating in Southeast Asia in 2003–2005. *Doklady Akademii nauk [Reports of the Academy of Sciences]*. 2006, vol. 406, no. 2, pp. 278–280. (In Russian)
20. Shchelkanov M.Yu., Kirillov I.M., Shestopalov A.M., Litvin K.E., Deryabin P.G., Lvov D.K. Evolution of the influenza A / H5N1 virus (1996–2016). *Problems in Virology*, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 7–18. (In Russian) <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2016-61-6-245-256>
21. Jameel S. The birds are coming: are we ready? *Indian Journal of Medical Research*. 2005, vol. 122, no. 4, pp. 277–281.
22. Kiselev O.I., Blinov V.M., Pisareva M.M., Ternovoy V.A., Agafonov A.P., Saraev D.V., Eropkin M.Yu., Lobova T.G., Grigorjeva V.A., Grudinin M.P. Isolates of the influenza virus subtype H5N1 isolated from poultry in the Kurgan region in 2005: molecular genetic characteristics. *Molecular biology (Moscow)*, 2008, vol. 42, no. 1, pp. 70–78.
23. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Deryabin P.G., Burtseva E.I., Galkina I.V., Grebennikova T.V., Prilipov A.G., Usachev E.V., Lyapina O.V., Shlyapnikova O.V., Poglazov A.B., Slavsky A.A., Morozova T.N., Vasiliiev A.V., Zaberezhny A.D., Dzharkenov A.F., Gabbasov F.B., Evdokimova M.I., Aliper T.I., Litvin K.E., Gromashevsky V.L., Vlasov N.A., Yashkulov K.B., Kovtunov A.I., Onishchenko G.G., Nepoklonov E.A., Suarez D.L. Epizootics among sibilant swans (*Cygnus olor*) in lower Volga Delta (November 2005) caused by highly pathogenic influenza A / H5N1 virus. *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2006, vol. 51, no. 3, pp. 10–16. (In Russian)
24. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Deryabin P.G., Akanina D.S., Galkina I.V., Grebennikova T.V., Fedyakina I.T., Alkhovsky S.V., Usacheva O.V., Kireev D.E., Slavsky A.A., Starikov N.S., Petrenko M.S., Mikhailova V.V., Usachev E.V., Sadykova G.K., Morozova T.N., Samokhvalov E.I., Yudin A.N., Vitkova O.N., Shcherbakova L.O., Zaberezhny A.D., Kalmykov M.V., Gromashevsky V.L., Aliper T.I., Yakovlev S.S., Vlasov N.A., Nepoklonov E.A., Suarez D. Molecular genetic characteristics of the A/chicken/Moscow/2/2007 (H5N1) strain from the outbreak of highly pathogenic influenza A

- among farm birds in the Moscow region (February 2007). *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2007, vol. 52, no. 6, pp. 40–47. (In Russian)
25. Globig A., Staubach C., Beer M., Köppen U., Fiedler W., Nieburg M., Wilking H., Starick E., Teifke J.P., Werner O., Unger F., Grund C., Wolf C., Roost H., Feldhusen F., Conraths F.J., Mettenleiter T.C., Harder T.C. Epidemiological and ornithological aspects of outbreaks of highly pathogenic avian influenza virus H5N1 of Asian lineage in wild birds in Germany, 2006 and 2007. *Transboundary Emerging Diseases*, 2009, vol. 56, no. 3, pp. 57–72. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2008.01061.x>
26. Mayor S. Link between H5N1 in UK and recent outbreaks in Hungary is investigated. *British Medical Journal*, 2007, vol. 334, id: 335. <https://doi.org/10.1136/bmj.39126.366076.DB>
27. Escorcia M., Attene-Ramos M.S., Estrada M.J., Nava G.M. Improving global influenza surveillance: trends of A (H5N1) virus in Africa and Asia. *British Medical Journal Research Notes*, 2012, 5, id: 62. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-5-62>
28. Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Lvov D.K., Fedyakina I.T., Kazaryan A.S., Galkina I.V., Morozova T.N., Kushnir A.T., Vlasov N.A., Deryabin P.G. Virulence dynamics of strains of highly virulent influenza A/H5N1 genotype 2.2 isolated in Russia in 2005–2007 years. *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2009, vol. 54, no. 2, pp. 8–17. (In Russian)
29. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Deryabin P.G., Prilipov A.G., Frolov A.V., Fedyakina I.T., Burtseva E.I., Shlyapnikova O.V., Poglavov A.B., Alkhovsky S.V., Galkina I.V., Igolkin A.V., Akanina D.S., Grebennikova T.V., Kireev D.E., Varkentin A.V., Slavsky A.A., Morozova T.N., Samokhvalov E.I., Litvin K.E., Vtkova O.N., Shcherbakova L.O., Irza V.N., Drygin V.V., Kalmykov M.V., Fontanetsky A.S., Zaberezhny A.D., Shevkoplyas V.N., Mitenko E.A., Shcherbina I.A., Aliper T.I., Gromashevsky V.L., Vlasov N.A., Nepoklonov E.A., Suarez D. Epizootics among wild and domestic birds caused by the highly virulent influenza A / H5N1 virus of genotype 2.2 (Qinghai–Siberian) on the path of autumn migrations in the northeastern part of the Azov Sea basin (Krasnodar Territory). *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2008, vol. 53, no. 2, pp. 14–19. (In Russian)
30. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Deryabin P.G., Fedyakina I.T., Burtseva E.I., Prilipov A.G., Kireev D.E., Usachev E.V., Aliper T.I., Zaberezhny A.D., Grebennikova T.V., Galkina I.V., Slavsky A.A., Litvin K.E., Dongur-ool A.M., Medvedev B.A., Dokper-ool M.D., Mongush A.A., Arapchor M.S., Kenden A.O., Vlasov N.A., Nepoklonov E.A., Suarez D. Isolation of highly pathogenic (HPAI) strains of influenza A/H5N1 virus from wild birds in the outbreak of epizootics on Lake Ubsu-Nur (June 2006) and their deposition in the State Collection of viruses of the Russian Federation (July 03, 2006). *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2006, vol. 51, no. 6, pp. 14–18. (In Russian)
31. Shestopalov A.M., Sharshov K.A., Sobolev I.A., Varkentin A.V., Yushkov Yu.G., Leonov S.V., Galkina I.V., Archimaeva T.P., Irza V.N., Shchelkanov M.Yu., Gadzhiev A.A., Magomedova M.Z. Results of long-term monitoring of avian influenza A virus on Lake Ubsu-Nur. *South of Russia: ecology, development*, 2016, vol. 11, no. 3, pp. 106–119. (In Russian) <http://dx.doi.org/10.18470/1992-1098-2016-3-106-119>
32. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Prilipov A.G., Vlasov N.A., Fedyakina I.T., Deryabin P.G., Alkhovsky S.V., Zaberezhny A.D., Suarez D. Evolution of HPAI H5N1 virus in Natural ecosystems of Northern Eurasia (2005–2008). *Avian Diseases*, 2010, vol. 54, no. 1, pp. 483–495. <http://dx.doi.org/10.1637/8893-042509-Review.1>
33. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology. Academic Press, 2015, 452 p.
34. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Vlasov N.A., Prilipov A.G., Deryabin P.G., Fedyakina I.T., Galkina I.V., Zaberezhny A.D., Lyapina O.V., Shlyapnikova O.V., Kireev D.E., Fesenko E.E., Kalmykov M.V., Vtkova O.N., Morozova T.N., Proshina E.S., Grebennikova T.V., Akanina D.S., Samokhvalov E.I., Alkhovsky S.V., Volkov V.A., Semenov V.I., Gaponov V.V., Shmakov N.I., Kushnir A.T., Kazaryan A.S., Starikov N.S., Petrenko M.S., Slavsky A.A., Litvin K.E., Shcherbakova L.O., Frolov A.V., Manin T.B., Umanets O.A., Bandeev V.V., Khvan A.M., Dunaev V.G., Cheledina T.P., Abgaryan S.R., Mikhailovich V.M., Assessor A.S., Lyubchenko E.N., Flyagin V.N., Tikhonova I.F., Maslov D.V., Ananyev V.Yu., Baranov N.I., Gorelikov V.N., Yakovlev S.S., Aliper T.I., Nepoklonov E.A., Suarez D. The first breakthrough of the highly virulent influenza A / H5N1 genotype 2.3.2 new for Russia in the Far East. *Voprosy virusologii [Problems in Virology]*. 2008, vol. 53, no. 5. pp. 4–8. (In Russian)
35. Kang H.M., Lee E.K., Song B.M., Jeong J., Choi J.G., Jeong J., Moon O.K., Yoon H., Cho Y., Kang Y.M., Lee H.S., Lee Y.J. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses among inoculated domestic and wild ducks, South Korea, 2014. *Emerging Infectious Diseases*, 2015, vol. 21, no. 2, pp. 298–304. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2102.141268>
36. Saito T., Tanikawa T., Uchida Y., Takemae N., Kanehira K., Tsunekuni R. Intracontinental and intercontinental dissemination of Asian H5 highly pathogenic avian influenza virus (clade 2.3.4.4) in the winter of 2014–2015. *Reviews in Medical Virology*, 2015, vol. 25, no. 6, pp. 388–405. <http://dx.doi.org/10.1002/rmv.1857>
37. Marchenko V.Y., Susloparov I.M., Kolosova N.P., Goncharova N.I., Shipovalov A.V., Durymanov A.G., Ilyicheva T.N., Budatsirenova L.V., Ivanova V.K., Ignatyev G.A., Ershova S.N., Tulyahova V.S., Mikheev V.N., Ryzhikov A.B. Influenza A (H5N8) virus isolation in Russia, 2014. *Archive Virology*, 2015, vol. 160, no. 11, pp. 2857–2860. <http://dx.doi.org/10.1007/s00705-015-2570-4>
38. Pasick J., Berhane Y., Joseph T., Bowes V., Hisanaga T., Handel K., Alexandersen S. Reassortant highly pathogenic influenza A H5N2 virus containing gene segments related to Eurasian H5N8 in British Columbia, Canada, 2014. *Scientific Reports*, 2015, vol. 5, id: 9484. <http://dx.doi.org/10.1038/srep09484>
39. Dunaeva M.N., Sharshov K.A., Sobolev I.A., Ledneva V.A., Pankratov D.V., Suroviy A.L., Galkina I.V., Fomenko P.V., Zhuravlev Yu.N., Shestopalov A.M., Shchelkanov M.Yu. North-Eastern Asia as a modern genetic subgroup generation center for highly pathogenic avian influenza A / H5 viruses (Orthomyxoviridae, Influenzavirus A). Abstract Book of the 1-st International Conference “North-East Asia Biodiversity” (Vladivostok, Russia; September 17–21, 2018). Vladivostok, The Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, 2018, pp. 28–29.
40. Bi Y., Li J., Li S., Fu G., Jin T., Zhang C., Yang Y., Ma Z., Tian W., Li J., Xiao S., Li L., Yin R., Zhang Y., Wang L., Qin Y., Yao Z., Meng F., Hu D., Li D., Wong G., Liu F., Lv N., Wang L., Fu L., Yang Y., Peng Y., Ma J., Sharshov K., Shestopalov A., Gulyaeva M., Gao G.F., Chen J., Shi Y., Liu W.J., Chu D., Huang Y., Liu Y., Liu L., Liu W., Chen Q., Shi W. Dominant subtype switch in avian influenza viruses during 2016–2019 in China. *Nature Communications*, 2020, vol. 11, no. 1, id: 5909. <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-19671-3>
41. Mine J., Tsunekuni R., Tanikawa T., Uchida Y., Dubovitskiy N., Derko A., Sobolev I., Shestopalov A., Sharshov

- K., Saito T. Genetics of Japanese H5N8 high pathogenicity avian influenza viruses isolated in winter 2020–2021 and their genetic relationship with avian influenza viruses in Siberia. *Transboundary Emerging Diseases*, 2022, vol. 69, no. 5, pp. e2195–e2213. <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.14559>
42. Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V. *Sbor khranenie i transportirovka polevogo materiala* [Collection, storage and transportation of field material]. In: *Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh Rukovodstvo po virusologii* [Viruses and viral infections of humans and animals. Handbook of Virology]. Moscow, Medical Information Agency Publ., 2013, pp. 409–416. (In Russian)
43. Seleznev S.B., Vetoshkina G.A., Krotova E.A. *Metodicheskie rekomendatsii po tekhnike vskrytiya ptits i issledovaniyu organov immmunnoi sistemy* [Methodological recommendations on the technique of opening birds and examining the organs of the immune system]. Moscow, Art Service Publ., 2016, 16 p. (In Russian)
44. Shubladze A.K., Gaidamovich S.Ya. *A short course in practical virology* [A short course in practical virology]. Moscow, Medical State Publ., 1954, 380 p. (In Russian)
45. Zaporozhets T.S., Besednova N.N., Kalinin A.V., Somova L.M., Shchelkanov M.Yu. 80 years on guard of biological safety at the eastern borders of Russia. *Public Health and Life Environment*, 2021, no. 5, pp. 5–15. (In Russian) <http://dx.doi.org/10.35627/2219-5238/2021-338-5-5-15>
46. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *American Journal of Epidemiology*. 1938, vol. 27, no. 3, pp. 493–497.
47. Dunaeva M.N., Shchelkanov M.Yu., Pankratov D.V., Iunikhina O.V., Krylova N.V., Lubova V.A. A set of oligonucleotides-primers used to identify the influenza A virus. Application of Patent RF, no. 2023127156, priority 24.10.2023. (In Russian)
48. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software for microcomputers. *Computer Applications in Biosciences*, 1994, vol. 10, no. 2, pp. 189–191. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/10.2.189>
49. Burkovsky O.A., Kurdyukov A.B. Materials on seasonal nutrition of black Corvus corone and large-billed C. macrorhynchos crows in Southern Primorye. *Russkii ornitologicheskii zhurnal* [Russian Ornithological Journal]. 1997, vol. 19, pp. 13–17. (In Russian)
50. Bazarova A.S. Spatiotemporal differentiation of a raven and carrion-crow in the conditions of Western Transbaikalia (on the example of Ulan-Ude). *Vestnik Buryatского государственного университета* [Bulletin of the Buryat State University]. 2014, no. 4, pp. 151–155. (In Russian)
51. Dunaeva M.N., Iunikhina O.V., Dombrovskaya I.E., Belik A.A., Chalenko I.S., Pott A.B., Mamoshina M.Yu., Kokorev A.S., Melnikov S.A., Pankratov D.V., Shchelkanov M.Yu. *Rol' dikikh ptits v formirovaniakh ehpizootii grippa A sredi domashnikh kur v Komsomol'ske-na-Amure (oktyabr' 2022 g.)* [The role of wild birds in the formation of influenza A epizootics among domestic chickens in Komsomolsk-on-Amur (October 2022)]. *Materialy Natsional'noi (Vserossiiskoi) nauchno-prakticheskoi konferentsii «Veterinarnye i biologicheskie aspekty v diagnostike i lechenii dikikh zhivotnykh», Ussuriisk, 31 marta, 2023* [Proceedings of the National (All-Russian) scientific and practical conference "Veterinary and biological aspects in the diagnosis and treatment of wild animals", Ussuriisk, 31 March, 2023]. Ussuriysk, 2023, pp. 34–38. (In Russian)
52. Pika S., Bugnyar T. The use of referential gestures in ravens (*Corvus corax*) in the wild. *Nature Communications*, 2011, vol. 2, id: 560. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms1567>
53. Shchelkanov M.Yu., Aristova V.A., Chumakov V.M., Lvov D.K. Historiography of the term "natural". In: *Novye i vozvrashchayushchesya infektsii v sisteme biobezopasnosti Rossiiskoi Federatsii* [Emerging and Reemerging Infections in the Biosafety System of the Russian Federation]. Moscow, Publishing House of the First I.M. Sechenov Moscow State Medical University, 2014, pp. 21–32. (In Russian)
54. Shchelkanov M.Yu., Ananyev V.Yu., Lvov D.N., Kireev D.E., Guryev E.L., Akanina D.S., Galkina I.V., Aristova V.A., Moskvina T.M., Chumakov V.M., Baranov N.I., Gorelikov V.N., Usachev E.V., Alkhovsky S.V., Lyapina O.V., Poglavaz A.B., Shlyapnikova O.V., Burukhina E.G., Borisova O.N., Fedyakina I.T., Burtseva E.I., Morozova T.N., Grenkova E.P., Grebennikova T.V., Prilipov A.G., Samokhvalov E.I., Zaberezhny A.D., Kolomeets S.A., Miroshnikov V.A., Oropai P.L., Gaponov V.V., Semenov V.I., Suslov I.O., Volkov V.A., Yamnikova S.S., Aliper T.I., Dunaev V.G., Gromashevsky V.L., Maslov D.V., Novikov F.T., Vlasov N.A., Deryabin P.G., Nepoklonov E.A., Zlobin V.I., Lvov D.K. Complex ecological and virological monitoring on the territory of Primorsky Krai (2003–2006). *Voprosy virusologii* [Problems in Virology]. 2007, vol. 52, no. 5, pp. 37–48. (In Russian)
55. Zhang G., Shoham D., Gilichinsky D., Davydov S., Castello J.D., Rogers S.O. Evidence of influenza A virus RNA in Siberian lake ice. *Journal of Virology*, 2006, vol. 80, no. 24, pp. 12229–12235. <http://dx.doi.org/10.1128/JVI.00986-06>
56. Lewis N.S., Banyard A.C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., Byrne A., Meruyert Akberovna S., King J., Harder T., Grund C., Essen S., Reid S.M., Brouwer A., Zinyakov N.G., Tegzhanov A., Irza V., Pohlmann A., Beer M., Fouchier R.A.M., Akhmetzhan Akievich S., Brown I.H. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerging Microbes Infections*, 2021, vol. 10, no. 1, pp. 148–151. <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2021.1872355>
57. Barman S., Turner J.C.M., Kamrul Hasan M., Akhtar S., Jeevan T., Franks J., Walker D., Mukherjee N., Seiler P., Kercher L., McKenzie P., Webster R.G., Feeroz M.M., Webby R.J. Emergence of a new genotype of clade 2.3.4.4b H5N1 highly pathogenic avian influenza A viruses in Bangladesh. *Emerging Microbes Infections*, 2023, vol. 12, no. 2, id: e2252510. <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2023.2252510>
58. Sobolev I., Alekseev A., Sharshov K., Chistyeva M., Ivanov A., Kurskaya O., Ohlopkova O., Moshkin A., Derko A., Loginova A., Solomatina M., Gadzhiev A., Bi Y., Shestopalov A. Highly pathogenic avian influenza A (H5N1) virus clade 2.3.4.4b infections in seals, Russia, 2023. *Emerging Infectious Diseases*, 2024, vol. 30, no. 10, pp. 2160–2164. <http://dx.doi.org/10.3201/eid3010.231728>

КРИТЕРИИ АВТОРСТВА

Михаил Ю. Щелканов сформулировал идею исследования, результаты которого представлены в статьи, и осуществлял общее руководство. Дмитрий В. Панкратов, Максим В. Гетке, Ирина С. Чаленко, Ирина Э.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Mikhail Y. Shchelkanov formulated the idea of the study, the results of which are presented in the article, and provided general guidance. Dmitry V. Pankratov, Maxim V. Getke, Irina S. Chalenko, Irina E. Dombrovskaya collected field

Домбровская собрали полевой материал и доставили его в НИИЭМ без разрыва холодовой цепочки. Мария Н. Дунаева провела изоляцию и идентификацию вирусных штаммов, секвенирование полноразмерного вирусного генома. Мария Н. Дунаева, Анастасия Б. Потт, Ольга В. Иунихина осуществляли определение инфекционного титра на модели клеточной культуры. Дмитрий В. Панкратов, Ольга В. Иунихина осуществляли контроль биологической безопасности в процессе сбора биологического материала и проведения исследований. Мария Н. Дунаева, Алексей А. Белик, Ольга В. Иунихина, Михаил Ю. Щелканов проанализировали данные и написали текст статьи. Все авторы в равной степени несут ответственность при обнаружении плагиата, самоплагиата или других нэтических проблем.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

material and delivered it to the NIIEM without breaking the cold chain. Maria N. Dunaeva isolated and identified viral strains and sequenced the full-size viral genome. Maria N. Dunaeva, Anastasia B. Pott, Olga V. Iunikhina carried out the determination of the infectious titer on a cell culture model. Dmitry V. Pankratov, Olga V. Iunikhina carried out biological safety control in the process of collecting biological material and conducting research. Maria N. Dunaeva, Alexey A. Belik, Olga V. Iunikhina, Mikhail Y. Shchelkanov analyzed the data and wrote the text of the article. All authors are equally responsible for detecting plagiarism, self-plagiarism or other genetic problems.

NO CONFLICT OF INTEREST DECLARATION

The authors declare no conflict of interest.

ORCID

Михаил Ю. Щелканов / Mikhail Yu. Shchelkanov <https://www.orcid.org/0000-0001-8610-7623>
Мария Н. Дунаева / Maria N. Dunaeva <https://www.orcid.org/0000-0002-1728-1852>
Алексей А. Белик / Alexey A. Belik <https://www.orcid.org/0000-0002-0303-3188>
Максим В. Гетке / Maxim V. Getke <https://orcid.org/0009-0003-4332-753X>
Анастасия Б. Потт / Anastasia B. Pott <https://www.orcid.org/0000-0002-1235-4960>
Ирина С. Чаленко / Irina S. Chalenko <https://orcid.org/0009-0007-1125-2608>
Ольга В. Иунихина / Olga V. Iunikhina <https://www.orcid.org/0000-0002-6723-582X>
Ирина Е. Домбровская / Irina E. Dombrovskaya <https://orcid.org/0009-0006-0083-8446>
Дмитрий В. Панкратов / Dmitry V. Pankratov <https://www.orcid.org/0000-0002-0115-5384>