



ЭКОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

Экология животных / Ecology of animals

Оригинальная статья / Original article

УДК 598.2 – 578.4

DOI: 10.18470/1992-1098-2016-4-56-65

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДИКИХ ПТИЦ – ЕСТЕСТВЕННОГО РЕЗЕРВУАРА ВИРУСА ГРИППА А НА ЮГЕ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

^{1,2}Кирилл А. Шаршов*, ^{1,2}Синьсинь Ли,

³Александр К. Юрлов, ^{1,2}Александр М. Шестопалов

¹Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины, Новосибирск, Россия, sharshov@yandex.ru

²Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

³Институт Систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия

Резюме. Цель. Изучить экологическое разнообразие диких птиц на территории Сибири, являющихся переносчиками вируса гриппа А. **Методы.** Биологический материал в виде клоакальных смывов и фрагментов кишечника от диких мигрирующих птиц был собран в период 2007-2014 гг. Вирус был наработан в аллантоисной полости развивающихся куриных эмбрионов. Наличие вируса определяли в реакции гемагглютинации, а первичную идентификацию и субтипирование вируса гриппа подтверждали методом обратной транскриптазной полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). **Результаты.** Было собрано и исследовано 2300 проб, полученных от диких мигрирующих птиц 8 отрядов. Вирус гриппа выявлен у 185 птиц из трех отрядов. Основную роль в циркуляции ВГА на территории юга Западной Сибири играют представители семейства Утиных (*Anatidae*) отряда Гусеобразных (*Anseriformes*), а именно виды – чирок-свистунок (*Anas crecca*), чирок-трескунок (*Anas querquedula*), и широконоска (*Anas clypeata*). В период с 2007 г. по 2014 г. процент вирусоносительства у гусеобразных птиц варьировал от 5.6 до 20%. Для отряда ржанкообразных был характерен более низкий процент выделения вируса, составляющий не более 1.4%. **Заключение.** Дикая мигрирующая птица отрядов гусеобразных (*Anseriformes*) и Ржанкообразных (*Charadriiformes*) являются основным резервуаром вируса гриппа А на юге западной Сибири. Территория юга Западной Сибири играет ключевую роль в персистенции вирусов гриппа птиц, их эволюции и географическом распространении.

Ключевые слова: вирус гриппа А, дикие птицы, водный и околотоводный комплекс, экология, миграции, распространение, наблюдение.

Формат цитирования: Шаршов К.А., Синьсинь Ли, Юрлов А.К., Шестопалов А.М. Экологическое разнообразие диких птиц – естественного резервуара вируса гриппа А на юге Западной Сибири // Юг России: экология, развитие. 2016. Т.11, N4. С.56-65. DOI: 10.18470/1992-1098-2016-4-56-65

ECOLOGICAL DIVERSITY OF WILD BIRDS - NATURAL RESERVOIR OF INFLUENZA A VIRUSES IN THE SOUTH OF WESTERN SIBERIA

^{1,2}Kirill A. Sharshov*, ^{1,2}Xinxin Li,

³Alexander K. Yurlov, ^{1,2}Alexander M. Shestopalov

¹Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Novosibirsk, Russia, sharshov@yandex.ru

²Novosibirsk state University, Novosibirsk, Russia

³Institute of systematic and ecology of animals SB RAS, Novosibirsk, Russia



Abstract. The *aim* is to explore the ecological diversity of wild birds in Siberia, which are carriers of the Avian Influenza Virus (AIV). **Methods.** Biological material in the form of cloacal swabs and intestinal fragments from wild migratory birds were collected in the period 2007-2014 years. The virus has been gained in the allantoic cavity of developing chicken embryos. The presence of virus was determined in hemagglutination and primary identification and subtyping of influenza virus was confirmed by RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction). **Results.** It was collected and investigated 2300 samples obtained from wild migratory birds 8 Orders. The influenza virus was detected in 185 birds of the three groups. The main role in the circulation of the AIV in the south of Western Siberia, playing members of the family *Anatidae* Order *Anseriformes*, namely species - Teal (*Anas crecca*), garganey (*Anas querquedula*), and shoveler (*Anas clypeata*). In the period from 2007 to 2014, the percentage of virus infection in waterfowl ranged from 5.6 to 20%. Order *Charadriiformes* was characterized by a lower percentage of virus isolation, of not more than 1.4%. **Conclusion.** Wild migratory waterfowl orders *Anseriformes* and *Charadriiformes* are the main reservoir of AIV in the south of Western Siberia. The area south of Western Siberia plays a key role in the persistence of avian influenza viruses, their evolution and geographical distribution.

Keywords: Influenza A virus, wild birds, water and wetland complex, ecology, migration, distribution, surveillance.

For citation: Sharshov K.A., Xinxin Li, Yurlov A.K., Shestopalov A.M. Ecological diversity of wild birds - natural reservoir of influenza A viruses in the south of Western Siberia. *South of Russia: ecology, development*. 2016, vol. 11, no. 4, pp. 56-65. (In Russian) DOI: 10.18470/1992-1098-2016-4-56-65

ВВЕДЕНИЕ

Заболевание животных и человека, называемое гриппом, вызывают представители семейства ортомиксовирусов: вирусы гриппа родов А, В и С. Из них только вирус гриппа А (ВГА) имеет широкий круг хозяев, в основном водоплавающих птиц. Вирусы гриппа А также были выделены у свиней, лошадей, собак, различных видов грызунов, некоторых видов морских млекопитающих, кошек, норок, а также людей [1]. Разнообразие вирусов гриппа сохраняется в популяциях диких птиц, их природном резервуаре [2, 3]. Птицы отрядов гусеобразные и ржанкообразные играют основную роль в циркуляции вируса гриппа в природе. Важность этого факта определяется еще и тем, что все они являются дальними мигрантами, а некоторые виды способны преодолевать расстояния до нескольких тысяч километров и переносить вирус на большие расстояния [4].

Жизненный цикл птиц принадлежащих к этим отрядам тесно связан с водоемами на которых во время миграций может скапливаться огромное количество птиц из различных регионов. Это приводит к активному обмену вирусами гриппа, его реассортации, возникновению новых вариантов их дальнейшему распространению. Инфицирование гриппом птиц имеет сезонный характер, пик инфекции, как правило, приходится на позднюю осень [5]. Данный факт, вероятно, связан с тем что осенью в популяции птиц большое количество молодых особей, у ко-

торых еще нет иммунитета к различным вариантам вируса гриппа. Важным является прямое или косвенное взаимодействие диких водоплавающих птиц с домашней птицей. Как правило, это может приводить к передаче вирусов гриппа, и в случае патогенных вирусов вызывать вспышки заболевания у домашних птиц [6]. Сезонные миграции диких птиц способствуют распространению различных вариантов вируса гриппа А в отдаленные географические регионы и обеспечивают их долговременное присутствие во многих экосистемах, что определяет важность и необходимость эпизоотологического мониторинга вируса гриппа птиц в естественных условиях.

Вероятнее всего, вода является оптимальной средой для сохранения и передачи вирусов гриппа птиц в природе, что объясняет широкое распространение этого патогена среди водоплавающих птиц. Вирус способен сохранять инфекционность в пресной воде до 4 дней при 22 °С, более 30 дней при 0 °С и длительный период во льду или замершей почве [7]. Вероятно, инфицированные птицы выделяют вирус в окружающую среду с фекалиями. Вирионы попадают в холодную воду и почву, а затем сохраняются в течение всей зимы. Весной, после возвращения, птицы контактируют с растаявшей водой и почвой и вновь инфицируются [8].



На севере России располагаются главные места гнездования многих мигрирующих птиц отрядов гусеобразных и ржанкообразных. Особую важность представляет территория Западно-Сибирской равнины [9-12]. На юге Западной Сибири расположено огромное количество рек и озер, находящихся на путях миграции птиц и являющихся гнездовыми ареалами большого числа видов, экологически связанных с водоемами. Самое крупное из озер этого региона – озеро Чаны – известно как место наибольшего скопления птиц во время миграционных остановок [13]. Территорию юга Западной Сибири пересекают несколько крупных миграционных путей: центрально-азиатский, западно-азиатский-восточноафриканский и

восточноазиатский-австралийский перелетные пути, объединяя популяции птиц, зимующих в различных регионах мира – Европе, Африке, на Ближнем Востоке, в Средней Азии, Индии, Юго-Восточной Азии, Австралии, Океании. Это способствует широкому распространению различных вариантов вируса гриппа. В связи с этим мониторинг и изучение экологии вируса гриппа А у птиц на Юге Западной Сибири, является важной и интересной научной задачей позволяющей понять причины большого генетического разнообразия вируса гриппа типа А и исследовать распространение данного патогена на территории всей Евразии [14-15].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В нашем исследовании мониторинга ВГА систематически проводился на юге Западной Сибири. Сбор клоакальных смывов производился у отстреленных или отловленных в сети диких птиц в периоды весенней и осенней миграций. Мазки брали сухими тампонами и помещали в пронумерованные пробирки со стерильной средой для транспортировки. Приготовленную среду фасовали по 1 мл в стерильные 2-миллилитровые пластиковые пробирки. Все манипуляции со средой (смешивание компонентов и фасование) проводили в стерильных условиях. Пробирки со средой хранили при +4°C или при комнатной температуре не более 2 дней; при необходимости более длительного хранения – при температуре -20°C. Собранный материал до анализа хранили в жидком азоте или в низкотемпературной морозильной камере при температуре не выше -70°C.

Выделение изолятов вируса гриппа А. Выделение изолятов ВГА из клоакальных смывов птиц проводился на развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ) путем проведения трех последовательных пассажей согласно методике ВОЗ [16]. После каждого пассажа нужно тестировать на присутствие гемагглютинирующей активности в реакции гемагглютинации.

Реакции гемагглютинации. В 96-луночном микропланшете готовили последовательные двукратные разведения тестируемой а.ж. фосфатно-солевым буфером. Конечный объем разведенной а.ж. в каждой

лунке составлял 50 мкл. Затем в каждую лунку вносили по 50 мкл суспензии эритроцитов, смесь перемешивали пипетированием и инкубировали без перемешивания при +4°C в течение 30 мин. О наличие гемагглютинирующих агентов в образце а.ж. судили по равномерному оседанию осадка эритроцитов на дне лунки (по т.н. оседанию эритроцитов в виде "зонтика"). В этом случае РГА считали положительной. Последнюю лунку в ряду двоичных разведений а.ж., где РГА все еще была положительна, принимали за конечную точку титрования. Разведение а.ж., соответствующее конечной точке титрования, обозначали как "титр вируса в РГА" (выражается дробным числом, например: 1/2, 1/4, 1/8 и т.д.). Количество ВГА, содержащееся в лунке, соответствующей конечной точке титрования, принимали за 1 гемагглютинирующую единицу (ГАЕ). Для использования вирусосодержащей а.ж. в реакции торможения гемагглютинации ее разводили таким образом, чтобы в 25 мкл жидкости содержалось 4 ГАЕ вируса.

ПЦР амплификация и сиквенс. Вирусная РНК была выделена из аллантаоисной жидкости с помощью набора SV Total RNA Isolation System (Promega Corporation, USA). Для обратной транскрипции были использованы универсальные праймеры Uni12 и AMV-reverse Transcriptase (Fermentas, Lithuania). Для ПЦР были использованы праймеры, специфичные к каждому гену. Ампликоны выделяли с помощью набора QIA quick gel extraction kit (Qiagen, USA).



Выделение РНК, реакцию обратной транскрипции, амплификацию, очистку продуктов амплификации проводили в соответ-

ствии с протоколами производителя. Для субтипирования использовали праймеры, описанные ранее [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование биологического разнообразия ВГА у диких птиц на территории юга Западной Сибири было проведено в период 2007-2014 гг. Ежегодно в период весенней и осенней миграции диких птиц осуществлялись экспедиционные выезды с целью сбора биологического материала.

Всего было собрано 2300 образцов от диких птиц 8 отрядов: гусеобразные, ржанкообразные, воробьинообразные, аистообразные, журавлеобразные, поганкообразные, пеликанообразные, хищные птицы.

Основное количество образцов было собрано от птиц трех отрядов – гусеобразные (*Anseriformes*), ржанкообразные (*Charadriiformes*) и воробьинообразные

(*Passeriformes*). Процент образцов от представителей отряда гусеобразные составил более 70 % от общего количества. Это связано с преимущественным сбором образцов у птиц водного и околоводного экологического комплекса, поскольку из литературы известна основная роль в циркуляции ВГА данного отряда. Наибольшее количество исследованных птиц относится к отряду гусеобразные и в основном представлено видами диких уток, такими как чирок-трескунок, чирок-свистунок, нырок красноголовый, кряква, серая утка и широконоска.

Видовая характеристика выборки отряда гусеобразные и количество исследованных образцов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Видовая характеристика и количество исследованных диких птиц юга Западной Сибири

Table 1

Characteristic of species and number of sampled wild birds in the south of Western Siberia

| Вид / Species | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | Итого Total |
|---|------|------|------|------|------|------|------|------|-------------|
| Чирок-трескунок / Garganey teal (<i>Anas querquedula</i>) | 90 | 79 | 36 | 52 | 48 | 2 | 16 | 52 | 375 |
| Чирок-свистунок / Common teal (<i>Anas crecca</i>) | 89 | 74 | 29 | 34 | 41 | 25 | 27 | 34 | 353 |
| Красноголовый нырок / Common pochard (<i>Aythya ferina</i>) | 65 | 29 | 30 | 38 | 81 | 16 | 24 | 35 | 318 |
| Кряква / Mallard (<i>Anas platyrhynchos</i>) | 57 | 24 | 17 | 16 | 27 | 16 | 41 | 29 | 227 |
| Серая утка / Gadwall (<i>Anas strepera</i>) | 37 | 25 | 23 | 22 | 10 | 9 | 27 | 18 | 171 |
| Широконоска / Northern shoveler (<i>Anas clypeata</i>) | 33 | 30 | 6 | 8 | 16 | 8 | 16 | 42 | 159 |
| Шилохвость / Pintail (<i>Anas acuta</i>) | 3 | 15 | 0 | 4 | 2 | 2 | 3 | 8 | 37 |
| Хохлатая чернеть / Tufted duck (<i>Aythya fuligula</i>) | 2 | 3 | 1 | 0 | 4 | 2 | 3 | 4 | 19 |
| Связь / European wigeon (<i>Anas penelope</i>) | 5 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 |
| Гоголь / Common goldeneye (<i>Bucephala clangula</i>) | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 0 | 4 | 9 |
| Луток / Magpie diver (<i>Mergellus albellus</i>) | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 6 |



| | | | | | | | | | |
|---|-----|-----|-----|-----|-----|----|-----|-----|------|
| Савка / White-headed duck (<i>Oxyura leucocephala</i>) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| Итого / Total | 385 | 279 | 142 | 181 | 232 | 80 | 157 | 229 | 1685 |

Данные виды птиц являются наиболее распространенными на территории южной Сибири и мигрируют в данный регион с целью гнездования. Считается, что данные виды птиц являются основным природным резервуаром ВГА.

Из собранного от гусеобразных материала было выделено 185 изолятов вируса гриппа А. Среди птиц отряда гусеобразные, от которых был выделен ВГА, доминируют следующие виды: чирок-трескунок, чирок-свистунок, широконоска.

Чирок-свистунок является одним из наиболее распространенных видов птиц отряда гусеобразные на территории юга Западной Сибири. Местами зимовки является территория Западной Европы, Средиземноморья и Каспия. В ходе мониторинга вируса гриппа на территории России от птицы вида чирок-свистунок были выделены различные штаммы, принадлежащие нескольким субтипам вируса гриппа: H1N1, H2N1, H3N8, H4N6, H5N1, H8N4, H8N4, H15N4 [18-26].

Птицы отряда ржанкообразные также представлены значительным количеством обследованных особей. Общее количество исследованных птиц данного отряда 556.

Наиболее распространенными обследованными нами видами явились чайка сизая, чайка озерная, чайка серебристая, относящиеся к семейству чайковых. На их долю приходится 65.55% особей данного отряда. Также значительное количество обследованных видов птиц проходятся на семейство бекасовые (кулики, чибис, турухтан, веретенник большой, кроншнеп) и составляет 21.04% от общего количества особей отряда ржанкообразные. Количество остальных видов отряда является незначительным, однако изучение вирусоносительства данных видов является важным аспектом в определении круга хозяев ВГА.

Результаты нашей работы показывают, что основную роль в поддержании циркуляции ВГА в естественной среде вносят птицы водно-болотной группы, а именно птицы отряда гусеобразные. Нами был проведен сравнительный анализ числа носителей вируса гриппа А в популяциях диких птиц на исследуемой территории в период 2007-2014 гг. В период с 2007 г. по 2014 г. процент вирусоносительства у гусеобразных птиц варьировал от 5.6 до 20 (табл. 2).

Таблица 2

Выделение вируса гриппа от птиц отряда гусеобразные в 2007-2014 годах

Table 2

Isolation of Avian influenza viruses from birds of Order Anseriformes in 2007-2014 years

| Год / Year | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 |
|-----------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Процент выделения (%) | 15.6 | 8.2 | 7.7 | 5.6 | 6 | 20 | 7 | 14.8 |
| Isolation rate (%) | | | | | | | | |

Для отряда ржанкообразных характерны более низкие проценты выделения вируса. В нашей работе вирусоносительство птиц данного отряда в среднем составило 1.4%. По литературным данным процент выделения ВГА от ржанкообразных варьируется от 0.51% до 10.07% [27-28].

У лысухи (*Fulica atra*), единственного исследованного представителя отряда жу-

равлеобразных процент выделения составил 2.6%.

Результаты показали, что в 2007, 2012 и 2014 годах выявлен наибольший процент вирусоносительства у гусеобразных. Это может быть связано с климатическими условиями. В частности, наибольшее значение для гусеобразных имеют водные условия (гидрологический режим водоемов, сезонная засушливость и т.д.). Для трансмиссии ВГА



важны также сроки миграций в каждом конкретном году, что влияет на плотность индивидуумов мигрирующих птиц в местах скоплений. В определенных местообитаниях с весны до осени периодически наблюдаются массовые скопления птиц. У ряда видов на время гнездования создаются моновидовые и поливидовые колонии, численность которых достигает нескольких тысяч особей. В послегнездовые периоды и при пролете образуются локальные скопления с включением до 50 видов птиц и общей численностью более 20 тысяч особей одновременно. При массовых скоплениях возникают контакты птиц разных видов и популяций, что создает благоприятные условия для распространения различных вирусных и инфекционных заболеваний [1, 2, 6, 8, 13].

Филогенетический анализ М гена всех выделенных в данной работе штаммов ВГА показал принадлежность вирусов к классическим вирусам гриппа птиц (Avian-like viruses). Можно условно выделить две основные группы – вирусы гриппа птиц Евразийской линии (Евразийская клада) и вирусы гриппа чаек. Относительно периода выделения, все вирусы на дендрограмме М гена располагаются хаотично, что свидетельствует о персистенции различных вариантов М гена в популяции диких птиц юга Западной Сибири. Из полученных данных филогенетического анализа можно судить о

том, что на территории юга Западной Сибири среди диких птиц отрядов гусеобразные, айстообразные, журавлеобразные и ржанкообразные циркулируют вирусы гриппа классической «птичьей» генетической линии (Avian-like viruses). Чайки хорошо известны как один из основных резервуаров низкопатогенных вариантов вируса гриппа А, хотя механизмы передачи и поддержания определенных субтипов вируса в популяциях чаек остаются до конца неясными. Несмотря на то, что большинство существующих субтипов было выделено от чаек, два субтипа гемагглютининов (Н13 и Н16) редко выделяются от других групп птиц и существующие данные многочисленных наблюдений предполагают, что эти два субтипа поддерживаются в природе в основном в популяциях чайковых птиц [29]. В последнее время было показано что, вирусы чаек имеют специфический генный пул, и обнаруживают довольно часто явление реассортации геномов [30-31].

Территория юга Западной Сибири располагается в центре Евразийского континента и пересекается тремя основными перелетными путями диких птиц, объединяя миграционные потоки птиц Европы, Африки, Азии и Океании [13]. Особенности климата данной региона создают благоприятные условия для длительного сохранения вируса в почве и воде [32-34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, территория юга Западной Сибири играет важную роль в персистенции вирусов гриппа птиц, их эволюции и географическом распространении. Результаты данного исследования указывают на необходимость дальнейшего мониторинга

вирусов гриппа среди диких птиц различных таксономических и экологических групп на этой территории, что позволит в будущем получать целые данные о разнообразии вирусных гриппах, их эволюции и географическом распространении.

Благодарности: Работа поддержана Министерством образования и науки РФ в рамках федеральной целевой программы (проект # RFMEFI61315X0045).

Acknowledgements: The study is supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (project # RFMEFI61315X0045).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses // *Microbiological Reviews*. 1992, Vol. 56(1), pp. 152-179.
2. Neumann G., Kawaoka Y. Host range restriction and pathogenicity in the context of influenza pandemic // *Emerging infectious diseases*. 2006, vol. 12, no. 6, pp. 881-886. DOI: 10.3201/eid1206.051336
3. Stalknecht D.E. Host range of avian influenza virus in free-living birds // *Veterinary research communications*. 1988, no. 12, pp. 25-41.
4. Ерохов С.Н. Белокрылая крачка // *Птицы СССР. Чайковые*. 1988. N34. С. 85-97.
5. Dowell S.F. Seasonal variation in host susceptibility



- and cycles of certain infectious diseases // *Emerging infectious diseases*. 2001, vol. 7, no. 3. pp. 369-374. DOI: 10.3201/eid0703.017301
6. Downie J.C. The ecology of influenza Isolation of type A influenza viruses from Australian pelagic birds // *The Australian journal of experimental biology and medical science*. 1977, no. 55, pp. 35-43.
7. Rogers S.O., Starmer W.T., Castello J.D. Recycling of pathogenic microbes through survival in ice // *Medical hypotheses*. 2004, vol. 63, iss. 5. pp. 773-777. DOI: 10.1016/j.mehy.2004.04.004
8. Marchenko V.Yu., Alekseev A.Yu., Tserennorov D., Yurlov A.K., Susloparov I.M., Sharshov K.A., Ilyinykh F.A., Zolotykh S.I., Abmed D., Otgonbaatar D., Shestopalov A.M. Results of the influenza virus surveillance in wild birds in Western part of Mongolia // *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2010, vol. 3, iss. 2, pp. 90-93.
9. Gilbert M., Chaitaweesub P., Parakamawongsa T., Premasathira S., Tiensin T., Kalpravidh W., Wagner H., Slingenbergh J. Free-grazing ducks and highly pathogenic avian influenza, Thailand // *Emerging infectious diseases*. 2006, vol. 12, no. 2, pp. 227-234. DOI: 10.3201/eid1202.050640
10. Шаршов К.А., Золотых С.И., Федоров Е.Г., Иванов И.В., Друзяка А.В., Шестопалов А.М., Нетесов С.В. Результаты мониторинга вируса гриппа среди синантропных птиц в эпизоотический и постэпизоотический периоды на юге Западной Сибири // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2007. N4. С. 53-56.
11. Sharshov K., Romanovskaya A., Uzhachenko R., Durymanov A., Zaykovskaya A., Kurskaya O., Ilyinykh P., Silko N., Kulak M., Alekseev A., Zolotykh S., Shestopalov A., Drozdov I. Genetic and biological characterization of avian influenza H5N1 viruses isolated from wild birds and poultry in Western Siberia // *Archives of Virology*. 2010, vol. 155, iss. 7. pp. 1145-1150. DOI: 10.1007/s00705-010-0676-2
12. Донченко А.С., Юшков Ю.Г., Марченко В.Ю., Шаршов К.А., Алексеев А.Ю., Ильиных Ф.А., Савченко И.А., Карпова Н.В., Савченко А.П., Шестопалов А.М. Результаты мониторинга вируса гриппа среди диких птиц на территории Красноярского края (2008 г.) // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2010. N7. С. 61-67.
13. Veen J., Yurlov A.K., Delany S.N., Mihantiev A.I., Selivanova M.A., Boere G.C. An atlas of movements of Southwest Siberian waterbirds. Wageningen the Netherlands: Wetlands International. 2005, 60 p.
14. Зайковская А.В., Сайфутдинова С.Г., Марченко В.Ю., Шаршов К.А., Дурыманов А.Г., Золотых С.И., Шматова Л.В., Демчин П.М., Юшков Ю.Г., Донченко А.С., Недужко В.А., Шестопалов А.М. Исключение этиологического значения вируса гриппа при массовой гибели диких птиц в Красноярском крае // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2011. N1. С. 88-93.
15. Шаршов К.А., Дурыманов А.Г., Романовская А.А., Зайковская А.В., Марченко В.Ю., Силко Н.Ю., Ильиных Ф.А., Суслопаров И.М., Алексеев А.Ю., Шестопалов А.М. Молекулярно-биологические и антигенные особенности штаммов высокопатогенного вируса гриппа H5N1-субтипа, выделенных на юге Сибири в 2005-2009 гг. // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2011. N5. С. 40-43.
16. The National Training Course on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. Text. Harbin, China (May 20-26, 2001). Harbin. p. 79.
17. Hoffmann E., Stech J., Guan Y., Webster R.G., Perez D.R. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses // *Archives of Virology*. 2001, vol. 146, iss. 12. pp. 2275-2289. DOI: 10.1007/s007050170002
18. Sivay M.V., Baranovich T., Marchenko V.Y., Sharshov K.A., Govorkova E.A., Shestopalov A.M., Webby R.J. Influenza A (H15N4) Virus Isolation in Western Siberia, Russia // *Journal of Virology*. 2013, vol. 87, no. 6. pp. 3578-3582. doi: 10.1128/JVI.02521-12
19. Sivay M.V., Sharshov K.A., Pantin J.M., Muzyka V.V., Shestopalov A.M. Avian Influenza Virus with Hemagglutinin-Neuraminidase Combination H8N8, Isolated in Russia // *Genome Announc*. 2014, vol. 2, no. 3, pp. 5-14. DOI: 10.1128/genomeA.00545-14.
20. Mariya V.S., Nikita Y.S., Sharshov K.A., Prorokudin A.V., Laixing Li, Min YangYang, Sheng Caoao, Shestopalov A.M. The role of wild goose (Anser) populations of Russia and the Tibet Plateau in the spread of the avian influenza virus // *Chinese Birds*. 2011, no. 2, pp. 140-146.
21. Марченко В.Ю., Шаршов К.А., Силко Н.Ю., Суслопаров И.М., Дурыманов А.Г., Зайковская А.В., Алексеев А.Ю., Смоловская О.В., Стефаненко А.П., Малкова Е.М., Шестопалов А.М. Характеристика вируса гриппа субтипа H5N1, выделенного во время вспышки среди диких птиц в России (Республика Тува) в 2010 г. // *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2011. N4. С. 36-40.
22. Marchenko V.Y., Alekseev A.Y., Sharshov K.A., Petrov V.N., Silko N.Y., Susloparov I.M., Tserennorov D., Otgonbaatar D., Savchenko I.A., Shestopalov A.M. Ecology of Influenza Virus in Wild Bird Populations in Central Asia // *Avian Diseases*. 2012, vol. 56, no.1, pp. 234-237.
23. Донченко А.С., Юшков Ю.Г., Сивай М.В., Шаршов К.А., Шестопалов А.М., Гуляева М.А. Генотипирование вирусов гриппа А, выделенных от диких птиц на юге Западной Сибири в 2011г. // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2012, no. 6, С. 84-89.
24. Шаршов К.А., Марченко В.Ю., Юрлов А.К., Шестопалов А.М. Экология и эволюция



- высокопатогенного вируса гриппа H5N1 в России (2005-2012 гг.) // Бюллетень Восточно-Сибирского Научного Центра СО РАМН. 2012. N5-1(87). С. 393-396.
25. Марченко В.Ю., Шаршов К.А., Шестопалов А.М. Экология вируса гриппа в популяциях диких птиц Центральной Азии // Бюллетень Восточно-Сибирского Научного Центра СО РАМН. 2012. N5-1(87). С. 271-275.
26. Сайфутдинова С.Г., Шаршов К.А., Герасимов Ю.Н., Шестопалов А.М. Экология вируса гриппа у чаек Дальнего Востока России // Бюллетень Восточно-Сибирского Научного Центра СО РАМН. 2012. N5-1(87). С. 316-318.
27. Germundsson A., Madslien K.I., Hjortaas M.J., Handeland K., Jonassen C.M. Prevalence and subtypes of influenza A viruses in wild waterfowl in Norway 2006-2007 // *Acta Vet Scand.* 2010, no. 28, pp. 52-28. DOI: 10.1186/1751-0147-52-28
28. Hurt A.C., Hansbro P.M., Selleck P., Olsen B., Minton C., Hampson A.W., Barr I.G. Isolation of avian influenza viruses from two different transhemispheric migratory shorebird species in Australia // *Archives of Virology.* 2006, no. 151, pp. 2301-2309. DOI: 10.1007/s00705-006-0784-1
29. Fouchier R.A., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T.M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G.F., Olsen B., Osterhaus A.D. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls // *Journal of Virology.* 2005, vol. 79, no. 5. pp. 2814-2822. doi: 10.1128/JVI.79.5.2814-2822.2005
30. Sharshov K., Sivay M., Liu D., Pantin J. M., Marchenko V., Durymanov A., Alekseev A., Damdindorj T., Gao G.F., Swayne D.E., Shestopalov A. Molecular characterization and phylogenetics of reassortant H13N8 influenza virus isolated from gulls in Mongolia. *VirusGenes.* 2014, no. 49, pp. 37-49.
31. Шаршов К.А., Сивай М.В., Марченко В.Ю., Алексеев А.Ю., Лайсинг Ли, Шестопалов А.М., Шкурупий В.А. Оценка патогенного потенциала вируса гриппа А/Н13N8, выделенного от серебристой чайки (*Larus argentatus*) // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. 2014. Т.12. N2. С. 5-11.
32. Сивай М.В., Юрлов А.К., Друзяка А.В., Шаршов К.А., Шестопалов А.М. Уникальные варианты вируса гриппа юга Западной Сибири // Бюллетень Восточно-Сибирского Научного Центра СО РАМН. 2012. N5-1(87). С. 319-322.
33. Sivay M.V., Sayfutdinova S.G., Sharshov K.A., Alekseev A.Y., Yurlov A.K., Runstadler J., Shestopalov A.M. Surveillance of influenza A virus in wild birds in the Asian portion of Russia in 2008 // *Avian Dis.* 2012, no. 56, pp. 56-63.
34. De Marco M.A., Delogu M., Sivay M., Sharshov K., Yurlov A., Cotti C., Shestopalov A. Virological evaluation of avian influenza virus persistence in natural and anthropic ecosystems of Western Siberia (Novosibirsk Region, Summer 2012) // *PLOS ONE.* 2014, vol. 9, iss. 6, e100859. DOI: 10.1371/journal.pone.0100859
1. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiological Reviews.* 1992, Vol. 56(1), pp. 152-179.
2. Neumann G., Kawaoka Y. Host range restriction and pathogenicity in the context of influenza pandemic. *Emerging infectious diseases.* 2006, vol. 12, no. 6, pp. 881-886. DOI: 10.3201/eid1206.051336
3. Stallknecht D.E. Host range of avian influenza virus in free-living birds. *Veterinary research communications.* 1988, no. 12, pp. 25-41.
4. Erokhov S.N. White-winged tern. *Ptitsy SSSR. Chaikovye* [Birds of the USSR. Gulls]. 1988. no. 34. pp. 85-97. (In Russian)
5. Dowell S.F. Seasonal variation in host susceptibility and cycles of certain infectious diseases. *Emerging infectious diseases.* 2001, vol. 7, no. 3. pp. 369-374. DOI: 10.3201/eid0703.017301
6. Downie J.C. The ecology of influenza Isolation of type A influenza viruses from Australian pelagic birds. *The Australian journal of experimental biology and medical science.* 1977, no. 55, pp. 35-43.
7. Rogers S.O., Starmer W.T., Castello J.D. Recycling of pathogenic microbes through survival in ice. *Medical hypotheses.* 2004, vol. 63, iss. 5. pp. 773-777. DOI: 10.1016/j.mehy.2004.04.004
8. Marchenko V.Yu., Alekseev A.Yu., Tserennorov D., Yurlov A.K., Susloparov I.M., Sharshov K.A., Ilyinykh F.A., Zolotykh S.I., Abmed D., Otgonbaatar D., Shestopalov A.M. Results of the influenza virus surveillance in wild birds in Western part of Mongolia. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 2010, vol. 3, iss. 2, pp. 90-93.
9. Gilbert M., Chaitaweesub P., Parakamawongsa T., Premasathira S., Tiensin T., Kalpravidh W., Wagner H., Slingenbergh J. Free-grazing ducks and highly pathogenic avian influenza, Thailand. *Emerging infectious diseases.* 2006, vol. 12, no. 2, pp. 227-234. DOI: 10.3201/eid1202.050640
10. Sharshov K.A., Zolotykh S.I., Fedorov E.G., Ivanov I.V., Druziaka A.V., Shestopalov A.M., Netesov S.V. Results of surveillance for avian influenza virus in synanthropic birds during epizootic and postepizootic periods on the south of West Siberia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2007, no.4. pp. 53-56. (In Russian)
11. Sharshov K., Romanovskaya A., Uzhachenko R.,



- Durymanov A., Zaykovskaya A., Kurskaya O., Ilinykh P., Silko N., Kulak M., Alekseev A., Zolotykh S., Shestopalov A., Drozdov I. Genetic and biological characterization of avian influenza H5N1 viruses isolated from wild birds and poultry in Western Siberia. *Archives of Virology*. 2010, vol. 155, iss. 7. pp. 1145-1150. DOI: 10.1007/s00705-010-0676-2
12. Donchenko A.C., Yushkov G.Yu., Marchenko V.Yu., Sharshov K.A., Alekseev A.Yu., Ilyin A.F., Savchenko I.A., Karpova N.V., Savchenko A.P., Shestopalov A.M. Results of influenza virus surveillance in wild birds in Krasnoyarsk territory (2008). *Sibirskii vestnik selskohozyaistvennoi nauki* [Siberian herald of agricultural science]. 2010, no. 7, pp. 61-67. (In Russian)
13. Veen J., Yurlov A.K., Delany S.N., Mihantiev A.I., Selivanova M.A., Boere G.C. An atlas of movements of Southwest Siberian waterbirds. Wageningen the Netherlands: Wetlands International. 2005, 60 p.
14. Zaykovskaya A.V., Saifutdinova S.G., Marchenko V.Yu., Sharshov K.A., Durymanov A.G., Zolotykh S.I., Shmatova L.V., Demchyn P.M., Yushkov Yu.G., Donchenko A.S., Neduzhko V.A., Shestopalov A.M. Elimination of influenza A virus in mass mortality of wild birds in Krasnoyarsk territory. *Sibirskii vestnik selskohozyaistvennoi nauki* [Siberian herald of agricultural science]. 2011, no. 1, pp. 88-93. (In Russian)
15. Sharshov K.A., Durymanov A.G., Romanovskaya A.A., Zaikovskaya A.V., Marchenko V.Yu., Silko N.Yu., Ilinykh F.A., Susloparov I.M., Alekseev A.Yu., Shestopalov A.M. Molecular-biological and antigenic features of H5N1 subtype highly pathogenic influenza virus strains isolated in southern Siberia in 2005-2009. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2011, no. 5, pp. 40-43. (In Russian)
16. The National Training Course on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. Text. Harbin, China (May 20-26, 2001). Harbin. p.79.
17. Hoffmann E., Stech J., Guan Y., Webster R.G., Perez D.R. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. *Archives of Virology*. 2001, vol. 146, iss. 12. pp. 2275-2289. DOI: 10.1007/s007050170002
18. Sivay M.V., Baranovich T., Marchenko V.Y., Sharshov K.A., Govorkova E.A., Shestopalov A.M., Webby R.J. Influenza A (H15N4) Virus Isolation in Western Siberia, Russia. *Journal of Virology*. 2013, vol. 87, no. 6. pp. 3578-3582. doi: 10.1128/JVI.02521-12
19. Sivay M.V., Sharshov K.A., Pantin J.M., Muzyka V.V., Shestopalov A.M. Avian Influenza Virus with Hemagglutinin-Neuraminidase Combination H8N8, Isolated in Russia. *Genome Announc.* 2014, vol. 2, no. 3, pp. 5-14. DOI: 10.1128/genomeA.00545-14.
20. Mariya V.S., Nikita Y.S., Sharshov K.A., Prorokudin A.V., Laixing Li, Min YangYang, Sheng Caoao, Shestopalov A.M. The role of wild goose (Anser) populations of Russia and the Tibet Plateau in the spread of the avian influenza virus. *Chinese Birds*. 2011, no. 2, pp. 140-146.
21. Marchenko V.Y., Sharshov K.A., Silko N.Y., Susloparov I.M., Durymanov A.G., Zaikovskaya A.V., Alekseev A.Y., Smolovskaya O.V., Stefanenko A.P., Malkova E.M., Shestopalov A.M. Characterization of the H5N1 influenza virus isolated during an outbreak among wild birds in Russia (Tuva Republic) in 2010. *Moleculyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya* [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]. 2011, no. 4, pp. 36-40. (In Russian)
22. Marchenko V.Y., Alekseev A.Y., Sharshov K.A., Petrov V.N., Silko N.Y., Susloparov I.M., Tserennorov D., Otgonbaatar D., Savchenko I.A., Shestopalov A.M. Ecology of Influenza Virus in Wild Bird Populations in Central Asia. *Avian Diseases*. 2012, vol. 56, no.1, pp. 234-237.
23. Donchenko A.S., Yushkov Yu.G., Sivay M.V., Sharshov K.A., Shestopalov A.M., Gulyaeva M.A. Genotyping of influenza A viruses isolated from wild birds in the South of Western Siberia in 2011. *Sibirskii vestnik selskohozyaistvennoi nauki* [Siberian herald of agricultural science]. 2012, no. 6, pp. 84-89. (In Russian)
24. Sharshov K.A., Marchenko V.Yu., Yurlov A.K., Shestopalov A.M. Ecology and evolution of highly pathogenic avian influenza H5N1 in Russia (2005-2012). *Bulleten Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra SO RAMN* [Bulletin of the East Siberian Scientific Center SB RAMS]. 2012, no. 5-1(87), pp. 393-396. (In Russian)
25. Marchenko V.Yu., Sharshov K.A., Shestopalov A.M. Ecology of influenza virus in wild bird populations in Central Asia. *Bulleten Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra SO RAMN* [Bulletin of the East Siberian Scientific Center SB RAMS]. 2012, no. 5-1(87), pp. 271-275. (In Russian)
26. Saifutdinova S.G., Sharshov K.A., Gerasimov Yu.N., Shestopalov A.M. Ecology of influenza A viruses, isolated from gulls of the Russian Far East. *Bulleten Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra SO RAMN* [Bulletin of the East Siberian Scientific Center SB RAMS]. 2012, no. 5-1(87), pp. 316-318. (In Russian)
27. Germundsson A., Madslie K.I., Hjortaa M.J., Handeland K., Jonassen C.M. Prevalence and subtypes of influenza A viruses in wild waterfowl in Norway 2006-2007. *Acta Vet Scand.* 2010, no.28, pp.52-28. DOI: 10.1186/1751-0147-52-28
28. Hurt A.C., Hansbro P.M., Selleck P., Olsen B., Minton C., Hampson A.W., Barr I.G. Isolation of avian influenza viruses from two different transhemispheric migratory shorebird species in Australia. *Archives of Virology*. 2006, no. 151, pp. 2301-2309. DOI: 10.1007/s00705-006-0784-1
29. Fouchier R.A., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T.M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G.F., Olsen B., Osterhaus A.D. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *Journal of Virology*. 2005, vol.



79, no. 5. pp. 2814-2822. doi: 10.1128/JVI.79.5.2814-2822.2005

30. Sharshov K., Sivay M., Liu D., Pantin J. M., Marchenko V., Durymanov A., Alekseev A., Damdindorj T., Gao G.F., Swayne D.E., Shestopalov A. Molecular characterization and phylogenetics of reassortant H13N8 influenza virus isolated from gulls in Mongolia. *Virus Genes*. 2014, no. 49, pp. 37-49.

31. Sharshov K.A., Sivay M.V., Marchenko V.Yu., Alekseev A.Yu., Laixing Li, Shestopalov A.M., Shkurupiy V.A. Pathogenic potential assessment of avian H13N8 influenza virus, isolated from herring gull (*Larus argentatus*). *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seria: Biologia, klinicheskaya medicina* [Bulletin of Novosibirsk State University. Series: Biology, clinical medicine]. 2014, vol. 12, no. 2, pp. 5-11. (In Russian)

32. Sivay M.V., Yurlov A.K., Druzyaka A.V., Sharshov K.A., Shestopalov A.M. Rare influenza virus subtypes isolated from birds of the south of Western Siberia. *Bulleten Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra SO RAMS* [Bulletin of the East Siberian Scientific Center SB RAMS]. 2012, no. 5-1(87), pp. 319-322. (In Russian)

33. Sivay M.V., Sayfutdinova S.G., Sharshov K.A., Alekseev A.Y., Yurlov A.K., Runstadler J., Shestopalov A.M. Surveillance of influenza A virus in wild birds in the Asian portion of Russia in 2008. *Avian Dis.* 2012, no. 56, pp. 56-63.

34. De Marco M.A., Delogu M., Sivay M., Sharshov K., Yurlov A., Cotti C., Shestopalov A. Virological evaluation of avian influenza virus persistence in natural and anthropic ecosystems of Western Siberia (Novosibirsk Region, Summer 2012). *PLOS ONE*. 2014, vol. 9, iss. 6, e100859. DOI: 10.1371/journal.pone.0100859

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Кирилл А. Шаршов* - к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментального моделирования и патогенеза инфекционных заболеваний, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины, ул. Тимакова, 2, г. Новосибирск, 630117, Россия, e-mail: sharshov@yandex.ru.

Синьсинь Ли - магистрант, Новосибирский национальный исследовательский государственный Университет, г. Новосибирск, Россия.

Александр К. Юрлов - к.б.н., ведущий научный сотрудник, руководитель группы экологии птиц, Институт систематики и экологии животных СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

Александр М. Шестопалов - профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией экспериментального моделирования и патогенеза инфекционных заболеваний, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины; Новосибирский национальный исследовательский государственный Университет, г. Новосибирск, Россия.

Критерии авторства

Кирилл А. Шаршов, Синьсинь Ли и Александр Юрлов собирали биологический материал. Кирилл А. Шаршов проводил наработку изолятов вируса, субтипирование и анализ совместно с Синьсинь Ли, вели вирусологические работы по выявлению изолятов, проводили постановку тестов РТГА, анализировали полученные данные, Александр К. Юрлов и Александр М. Шестопалов корректировали рукопись до подачи в редакцию. Все авторы в равной степени участвовали в этой работе. Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 29.03.2016

Принята в печать 19.04.2016

AUTHORS INFORMATION

Affiliations

Kirill A. Sharshov* - PhD, Senior researcher of the laboratory of experimental modeling and pathogenesis of infectious diseases, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Timakova Str. 2, Novosibirsk, 630117, Russia, e-mail: sharshov@yandex.ru.

Xinxin Li - master student, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.

Alexander K. Yurlov - PhD in Biological sciences, Leading researcher, Head of the Research group of birds ecology, Institute of systematic and ecology of animals SB RAS, Novosibirsk, Russia.

Alexander M. Shestopalov - professor, Doctor of biological sciences, Head of the laboratory of experimental modeling and pathogenesis of infectious diseases, Research Institute of Experimental and Clinical Medicine; Novosibirsk state University, Novosibirsk, Russia.

Contribution

Kirill A. Sharshov, Xinxin Li and Alexander Yurlov collected biological material. Kirill A. Sharshov spent time between virus isolates, subtyping and analysis in conjunction with Li Xinxin, led virological work to identify isolates conducted staging tests HI, analyzed the data, Alexander K. Yurlov and Alexander M. Shestopalov corrected manuscript prior to submission to the editor. All authors have been equally involved in this research. Authors are equally responsible for the manuscript and for avoiding the plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 29.03.2016

Accepted for publication 19.04.2016