МРНТИ 68.35.31 DOI: 10.58318/2957-5702-2025-24-4-10
Оригинальная статья

ИЗУЧЕНИЕ ИНТРАВЕНОЗНОГО ИНДЕКСА ПАТОГЕННОСТИ ИЗОЛЯТА *A/CYGNUS CYGNUS/KARAKOL LAKE/01/2024* ГРИППА ПТИЦ

Майлыбаева А.М.*, Акмырзаев Н. Ж., Сагимбаева А.М., Мырзахметов Е.Т., Рыскельдинова Ш.Ж., Копеев С.К., Яманова Е.С., Сидихов Р.Б., Бурашев Е.Д., Асанжанова Н.Н.

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Республика Казахстан
*a.mailybayeva@biosafety.kz

Аннотация. В работе представлены результаты комплексного исследования биологических свойств изолята высокопатогенного вируса гриппа птиц *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024 (H5N1)*, выделенного в Мангистауской области Республики Казахстан при вспышке в 2023-2024 гг. Проведена оценка его патогенности на 6-недельных СПФ-цыплятах, а также репродуктивной активности в развивающихся куриных эмбрионах. Показано, что вирус обладает высокой вирулентностью, вызывает 100% гибель заражённых эмбрионов в течение 48 часов и характеризуется максимальным значением интравенозного индекса патогенности (ИВИП = 3,6). Полученные данные подтверждают принадлежность изолята к высокопатогенным вариантам H5N1.

Ключевые слова: грипп птиц, H5N1, ИВИП, патогенность, вирус.

Введение

Высокопатогенный грипп птиц (ВПГП) – это острая, чрезвычайно контагиозная вирусная инфекция, поражающая широкий спектр домашних и диких видов птиц. Заболевание проявляется выраженным общим угнетением, снижением активности и аппетита, нарушениями координации, а также развитием характерных патологических изменений, включающих генерализованные отёки, множественные точечные и разлитые кровоизлияния, дистрофические и некротические процессы во внутренних органах. Нередко отмечаются поражения головного мозга и кожных покровов, что отражает системный характер инфекции [1-3].

Для высокопатогенной формы гриппа птиц характерна чрезвычайно высокая летальность. У молодняка показатель смертности может достигать 100%, причём гибель наступает в короткие сроки от начала клинических проявлений. Тяжесть течения заболевания обусловлена как высокой вирулентностью возбудителя, так и его способностью к быстрому распространению в восприимчивых популяциях птиц.

Возбудитель заболевания – РНК-содержащий вирус семейства *Orthomyxoviridae*, рода *Influenzavirus*, типа А, отличающийся сегментированным геномом и высоким уровнем генетической вариабельности. Эти особенности способствуют частым мутациям и реассортации генов, что, в свою очередь, приводит к появлению новых антигенных вариантов и увеличивает риск возникновения эпизоотий и угрозы межвидовой передачи [4].

В период с 2005 по 2007 годы вспышки ВПГП A/H5N1 приобрели чётко выраженный трансконтинентальный характер, стремительно распространившись из Юго-Восточной Азии практически на всю территорию Евразийского континента, а также затронув ряд стран Африки. Расширение географии эпизоотий и появление вспышек ВПГП A/H5N1 в государствах, расположенных на трёх различных континентах, сопровождались появлением новых вирусных вариантов. Предполагаемые мутационные изменения в геноме H5N1 способствовали усложнению эпизоотической ситуации, усиливая вирулентность и адаптационный потенциал вируса [5]. В этот же период на территории Казахстана была зарегистрирована неблагополучная эпизоотическая ситуация: вспышки гриппа птиц были выявлены в семи регионах страны, что свидетельствовало о широком распространении инфекции и её значительном эпизоотическом значении.

Вспышки ВПГП H5N1 среди сельскохозяйственной птицы привели к значительным экономическим потерям в мировой птицеводческой отрасли вследствие массового падежа и вынужденного

уничтожения поголовья. Дополнительно, спорадические случаи передачи вируса человеку, зарегистрированные в ряде стран, подчёркивают значимый потенциальный риск для общественного здравоохранения. С 2003 года в 23 государствах было задокументировано 889 случаев заболевания людей вирусом A/H5N1, обусловленных циркуляцией различных штаммов ВПГП A/H5N1 [6].



Рисунок 1 - Пути миграции диких птиц

Территория Казахстана пересекается несколькими ключевыми миграционными маршрутами перелётных птиц, что создаёт благоприятные условия для переноса вирусов гриппа (рисунок 1) [7]. Эти пути соединяют регионы Юго-Восточной Азии с европейскими и североафриканскими территориями, обеспечивая двустороннее распространение возбудителя между континентами [8].

В 2023–2024 годах на озере Каракол, расположенном на побережье Каспийского моря, была зарегистрирована массовая гибель лебедей. Для установления причин происходящего и оценки эпизоотического риска группа учёных НИИПББ провела выездные исследования с последующим отбором проб от павших особей. Полученные образцы были подвергнуты лабораторному анализу, включающему молекулярно-генетическую идентификацию вируса и последующий филогенетический анализ, которые подтвердили присутствие ВПГП A/H5N1 [9].

Согласно данным Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан, с начала 2024 года в очагах инфекции было вынужденно уничтожено свыше 310 тысяч голов птицы. Специалисты отмечают, что вспышки связаны с циркуляцией вируса H5N1, который относится к числу наиболее опасных патогенов для домашних и диких птиц и представляет потенциальную угрозу для человека. По информации Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ), вирус H5N1 продолжает вызывать эпизоотии среди птиц по всему миру, а отдельные случаи заболевания у людей, в том числе с летальными исходами, зарегистрированы в странах Азии, Европы и недавно – в США.

Целью данной работы явилось всестороннее исследование биологических свойств штамма (изолята) вируса гриппа птиц *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1), выделенного на территории Мангыстауской области в 2023–2024 годах. В рамках работы предусматривалось определение его патогенности на цыплятах, оценка репродуктивных свойств в куриных эмбрионах. Полученные данные позволяют охарактеризовать эпизоотический потенциал изолята, установить его таксономическое положение среди циркулирующих штаммов H5N1.

Материалы и методы

Вирус. Изолят вируса гриппа *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1) из лаборатории Коллекции микроорганизмов.

Лабораторные животные. ИВИП определяли на 6-недельных цыплятах, серонегативных к гриппу птиц.

Выделение вируса. Вирусовыделение осуществляли в соответствии с методическими рекомендациями ВОЗЖ, используя 9-11 – суточные развивающие куриные эмбрионы (РКЭ). Для заражения готовили 10% суспензию органов больной птицы (лёгкие, трахея, носоглоточные и клоачные смывы), которую вводили в аллантоисную полость в объёме 0,2 мл на эмбрион. Всего инокулировали 10 эмбрионов, при этом в качестве контроля использовали 5 незаражённых РКЭ. Эмбрионы, погибшие спустя 48 часов инкубации и позднее, отбирали для сбора аллантоисной жидкости (АЖ) и проведения последующих лабораторных исследований.

Изолят вируса гриппа *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1) был размножен в 9-11 сут. куриных эмбрионах. ИВИП определялся в соответствии с рекомендациями ВОЗЖ. Для этого выбрали 6-недельные цыплята, свободные от специфических патогенов (СПФ), ранее не вакцинированные против каких-либо подтипов вируса гриппа. Десяти цыплятам внутривенно в вену крыла вводили 0,1 мл инокулята, содержащего разведение 1:10 (стерильным ФБР) аллантоисной жидкости, полученной из 9-11 сут. РКЭ с титром ГА > 1/16 ГАЕ. Контрольным цыплятам вводили только 1Х ФБР (рисунок 2).

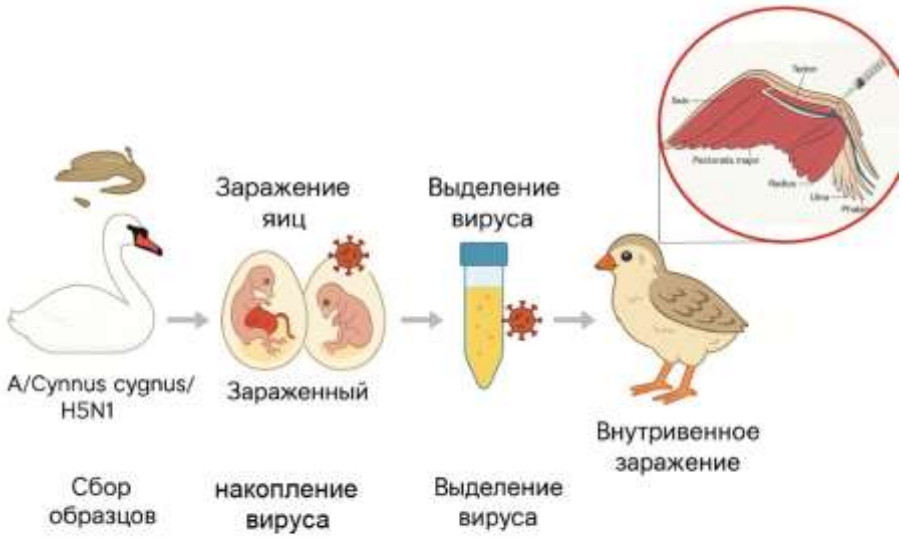


Рисунок 2 – Выделение вируса и интравенозные заражение

Зараженные цыплята проверяются на наличие клинических симптомов (выделения из глаз и носа, кашель, хрипы и одышка, отеки в области головы, шеи, груди и гортани, носовых пазух, вялость, снижение аппетита, паралич, дискоординация движений, запрокидывание головы, вращательные движения головой с потряхиванием, искривление шеи, отсутствие реакции на внешние раздражители, отказ от корма и воды, угнетенное состояние, синусит, истечение из носовых отверстий, конъюнктивит, помутнение роговицы и слепота, порезы крыльев или ног, цвет выделения – серозные или гнойные, депрессия, слабость, диарея, цианоз неоперенной кожи, цианоз гребней). Оценка проходит по бальной шкале. 0 – нет клиники, 1 – если наблюдается один из следующих признаков, 2 – если наблюдается более одного из признаков, 3 – погибшие. Погибшие птицы получали коэффициент 3 ежедневно, вплоть до десятого дня опыта. Интравенозный индекс патогенности вычисляли по формуле:

$$ПРІ = \frac{\sum_{i=1}^{10}(Б_i \times 1 + NБ_i \times 2 + П_i \times 3)}{10 \times N}$$

Bi — число больных в день i;
NBi — число тяжелобольных в день i;
Pi — число павших на день i;
N — общее число птиц в эксперименте.

По результатам определения индекса интравенозной патогенности вирус ГП будет отнесен к высокопатогенному (ИВИП>1,2) или низкопатогенному (ИВИП <1,2) по ВОЗЖ [10].

Результаты

Патологические материалы трахея, лёгкие, носоглоточные и клоачные смывы, полученные от лебедя шипуна для размножения вирус изолята вводили на 11-суточным СПФ- куриным эмбрионам. Спустя 48 часов инкубации отмечена 100% гибель всех зараженных эмбрионов, что свидетельствует о высокой вирулентности исследуемого материала. При последующем вскрытии эмбрионов выявлялись многочисленные геморрагические изменения, наиболее выраженные в области головы,

что является характерным патологическим признаком поражения высокопатогенными вирусами гриппа птиц.

Аллантоисная жидкость первого пассажа, показала гемагглютинирующую активность на уровне от 1:64 до 1:256 в реакции гемагглютинации.

Далее наработанный вируссодержащий материал, вводили цыплятам, уже в первые сутки после 6 часов внутривенного введения вируссодержащего материала у всех птиц наблюдались выраженные признаки угнетения, снижение активности, отказ от корма, водянистая диарея, что характерно для тяжелого поражения высокопатогенными вирусами гриппа птиц.



Рисунок 3 - Динамика клинического балла у цыплят при определении ИВИП.

В ходе исследования была оценена динамика клинических признаков у цыплят опытной и контрольной групп в течение 10 дней после внутривенного заражения вирусом *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1).

У контрольной группы на всех временных точках (6, 12, 18, 24 и 30 часов) средний клинический балл оставался равным 0, что свидетельствует об отсутствии каких-либо клинических изменений и подтверждает специфичность наблюдаемых эффектов у заражённых животных. У опытной группы отмечалось последовательное нарастание клинических проявлений заболевания. Уже через 6 часов после заражения средний клинический балл составлял 1, что отражает появление первых признаков угнетения и снижения активности у птиц. К 12 часам показатель увеличился до 2, свидетельствуя об усилении клинических симптомов. На 18-м часе средний балл оставался на уровне 2, наблюдалось дальнейшее ухудшение состояния птиц, что указывает на стабильно тяжёлое состояние заражённых цыплят. Через 24 часа – средний клинический балл достиг максимального значения 3, все цыплята опытной группы погибли. Данный результат свидетельствует о крайне высокой вирулентности исследуемого изолята и его способности вызывать стремительно прогрессирующее заболевание с летальным исходом в течение 24 часов. На основании полученных данных, согласно методике расчёта, был определён интравенозный индекс патогенности, который составил 3,6, что соответствует максимально возможному уровню вирулентности для высокопатогенных вирусов гриппа птиц.

Изолят *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1) органично вписывается в современную эпизоотическую картину высокопатогенного гриппа птиц, демонстрируя высокую вирулентность и значительное сходство по биологическим и генетическим характеристикам с актуальными зарубежными штаммами, циркулирующими в Евразийском регионе. Полученные результаты подчёркивают важность использования именно таких актуальных региональных изолятов при разработке современных вакцин, обладающих максимальной филогенетической и антигенной релевантностью.

Обсуждение

Согласно критериям, принятым в Европейском союзе и отражённым в руководствах ВОЗЖ, степень патогенности вирусов гриппа птиц оценивают по внутривенному патогенному индексу на

СПФ-цыплятах, способности вируса реплицироваться в культурах клеток без добавления трипсина, а также по первичной структуре сайта расщепления гемагглютинина.

Изучение генетических [9] и биологических свойств изолята *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1) показал его близкое филогенетическое родство с рядом высокопатогенных штаммов, циркулирующих в последние годы в Евразийском регионе [11]. Согласно данным секвенирования, современные варианты вируса H5N1 относятся преимущественно к кладу 2.3.4.4b, который стал доминирующим в Европе, Центральной и Южной Азии, а также на Ближнем Востоке [12]. Представители этого клада характеризуются высокой экологической пластичностью, способностью эффективно распространяться среди диких водоплавающих птиц и вызывать тяжёлые эпизоотии на птицеводческих фабриках.

Широкая циркуляция вирусов H5N1 среди диких птиц свидетельствует о высокой вероятности того, что эти вирусы будут продолжать наносить ущерб промышленному птицеводству и представлять угрозу для здоровья населения. В связи с этим настоятельно рекомендуется, чтобы страны, относящиеся к зонам высокого риска, проводили вакцинацию домашней птицы с целью защиты её от высокопатогенного птичьего гриппа H5.

Учитывая продолжающуюся широкую циркуляцию вирусов H5N1 среди диких водоплавающих птиц и высокую вероятность их заноса в домашние популяции, разработка и применение вакцин на основе современных местных штаммов, включая изолят *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024*, является чрезвычайно актуальным и научно обоснованным подходом. Использование такой вакцины позволит повысить эффективность иммунной защиты, снизить риск эпизоотических вспышек и обеспечить надёжную защиту птицеводческих хозяйств, особенно в странах, относящихся к зонам повышенного риска.

Заключение

Таким образом, полученные результаты демонстрируют выраженную и стремительно нарастающую динамику клинического ухудшения в опытной группе, тогда как птицы контрольной группы оставались полностью клинически здоровыми на протяжении всего периода наблюдения. Значение ИВИП = 3,6 подтверждает крайне высокую патогенность изолята *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1) и согласуется с характеристиками высокопатогенных вирусов гриппа птиц (ВПГП).

Финансирование: Данная работа выполнена в рамках НТП O.1307 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» (ИРН BR218004/0223)

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. В.Н Сюрин, А.Я. Самуйленко, Б.В. Соловьев, Н.В. Фомина. Вирусные болезни животных // М.: ВНИИТиБП, 1998. С. 233–238.

2. Alexander D.J. Orthomyxovirus infections // Virus Infections of Birds — Amsterdam etc., 1993. P. 287–316.

3. Highly pathogenic avian influenza // O.I.E. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines, adopted 2005.

4. Александр D.J Обзор эпидемиологии птичьего гриппа. Вакцина. 2007;25:5637–5644. doi: 10.1016/j.vaccine.2006.10.051.

5. Ж.К Кыдырбаев, К.К. Табынов, Б.М. Хайруллин. Высокопатогенный грипп птиц: распостранение в Казахстане и разработка средств специфической профилактики // Алматы, 2015. С. 26-27.

6. World Health Organization Cumulative Number of Confirmed Human Cases for Avian Influenza A(H5N1) Reported to WHO, 2003–2024, 3 May 2024. [accessed on 3 May 2024]. Availableonline: https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-number-of-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a(h5n1)-reported-to-who--2003-2024-3-may-2024.

7. Е.О. Абдураимов, А.С. Рсалиев, К.Д. Закарья и др. // Атлас вирусных болезней животных (блютанг, болезнь Ньюкасла, грипп птиц, ящур, оспа овец, оспа коров, ринопневмония лошадей, грипп лошадей, инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота, лейкоз крупного рогатого скота, вирусная диарея крупного рогатого скота, коронавирусная инфекция крупного рогатого скота) Монография. - Астана, 2025. - С. 54. ISBN 978-601-12-4747-4

8. Sobolev I., Gadzhiev A., Sharshov K., Ohlopkova O., Stolbunova K., Fadeev A., et al. Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N1) Virus-Induced Mass Death of Wild Birds, Caspian Sea, Russia, 2022. Emerg. Infect. Dis. 2023;29:2528–2532. doi: 10.3201/eid2912.230330.

9. Sultankulova K.T, Argimbayeva T.U, Aubakir N.A, Bopi A, Omarova Z.D, Melisbek A.M, et al. Reassortants of the Highly Pathogenic Influenza Virus A/H5N1 Causing Mass Swan Mortality in Kazakhstan from 2023 to 2024. Animals (Basel). 2024 Nov 8;14(22):3211. doi: 10.3390/ani14223211. PMID: 39595266; PMCID: PMC11591535.

10. WOAH Terrestrial Manual 2021/ Chapter 3.3.4. – Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses).

11. Lewis N.S, Banyard A.C, Whittard E, Karibayev T, Al Kafagi T, Chvala I, et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. Emerg Microbes Infect. 2021 Dec;10(1):148-151. doi: 10.1080/22221751.2021.1872355. PMID: 33400615; PMCID: PMC7832535.

12. Swayne D.E.; Suarez D.L. Highly pathogenic avian influenza. Scientific & Technical Review. 2000/08/1; 19(2):463-482.doi: http://dx.doi.org/10.20506/rst.19.2.1230.

References

1. Syurin V.N, Samuilenko A.Ya, Solovyev B.V, Fomina N.V. Viral diseases of animals. Moscow: VNIITiBP; 1998. pp. 233–238.

2. Alexander DJ. Orthomyxovirus infections. In: Virus Infections of Birds. Amsterdam: Elsevier; 1993. pp. 287–316.

3. World Organisation for Animal Health (OIE). Highly pathogenic avian influenza. In: Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines; 2005.

4. Alexander D.J. Overview of avian influenza epidemiology. Vaccine. 2007;25:5637–5644. doi:10.1016/j.vaccine.2006.10.051.

5. Kydyrbayev Zh.K, Tabynov K.K, Khairullin B.M. Highly pathogenic avian influenza: spread in Kazakhstan and development of specific preventive measures. Almaty; 2015. pp. 26–27.

6. World Health Organization. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A (H5N1) reported to WHO, 2003–2024. Updated 3 May 2024. Available from: https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-number-of-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a(h5n1)-reported-to-who--2003-2024-3-may-2024

7. Abduraimov EO, Rsaliyev AS, Zakarya KD, et al. Atlas of viral diseases of animals (bluetongue, Newcastle disease, avian influenza, foot-and-mouth disease, sheep pox, cowpox, equine rhinopneumonitis, equine influenza, infectious bovine rhinotracheitis, bovine leukemia, bovine viral diarrhea, bovine coronavirus infection) – Astana, 2025. - p.54. ISBN 978-601-12-4747-4

8. Sobolev I, Gadzhiev A, Sharshov K, Ohlopkova O, Stolbunova K, Fadeev A, et al. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus–induced mass mortality of wild birds, Caspian Sea, Russia, 2022. Emerg Infect Dis. 2023;29:2528–2532. doi:10.3201/eid2912.230330.

9. Sultankulova K.T, Argimbayeva T.U, Aubakir N.A, Bopi A, Omarova Z.D, Melisbek A.M, et al. Reassortants of the highly pathogenic influenza virus A/H5N1 causing mass swan mortality in Kazakhstan from 2023 to 2024. Animals (Basel). 2024;14(22):3211.doi:10.3390/ani14223211.

10. World Organisation for Animal Health (WOAH). Terrestrial Manual 2021: Chapter 3.3.4 – Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses).

11. Lewis N.S, Banyard A.C, Whittard E, Karibayev T, Al Kafagi T, Chvala I, et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. Emerg Microbes Infect. 2021;10(1):148–151. doi:10.1080/22221751.2021.1872355.

12. Swayne D.E, Suarez D.L. Highly pathogenic avian influenza. Rev Sci Tech. 2000;19(2):463–482. doi:10.20506/rst.19.2.1230.

ҚҰС ТҰМАУЫНЫҢ *A/CYGNUS CYGNUS/KARAKOL LAKE/01/2024* ИЗОЛЯТЫНЫҢ ПАТОГЕНДІГІНІҢ ИНТРАВЕНОЗДЫҚ ИНДЕКСІН ЗЕРТТЕУ

Майлыбаева А.М.*, Акмырзаев Н. Ж., Сагимбаева А.М., Мырзахметов Е.Т., Рыскельдинова Ш.Ж., Копеев С.К., Яманова Е.С., Сидихов Р.Б., Бурашев Е.Д., Асанжанова Н.Н.

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, «QazBioPharm» ұлттық холдингі, Гвардейский, Қазақстан Республикасы

*a.mailybayeva@biosafety.kz

Аннотация. Бұл жұмыста Қазақстан Республикасының Маңғыстау облысынан 2023–2024 жж. тіркелген індет ошағы кезінде бөлініп алынған жоғары патогенді құс тұмауы вирусының *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1) изолятының биологиялық қасиеттерін кешенді зерттеу нәтижелері ұсынылған. Вирустың 6 апталық СПФ балапандардағы патогендігі және дамып келе жатқан тауық эмбриондарындағы репродуктивтік белсенділігі анықталды. Зерттеу нәтижелері вирустың жоғары вируленттігін, жұқтырылған эмбриондардың 48 сағат ішінде 100% өлімін тудыратынын және интравеноздық патогендік индексінің (ИВПИ = 3,6) максималды деңгеймен сипатталатынын көрсетті. Алынған деректер изоляттың H5N1-дің жоғары патогенді нұсқаларына жататынын растайды.

Түйін сөздер: құс тұмауы, H5N1, ИВПИ, патогендік, вирус.

STUDY OF THE INTRAVENOUS PATHOGENICITY INDEX OF THE AVIAN INFLUENZA VIRUS ISOLATE *A/CYGNUS CYGNUS/KARAKOL LAKE/01/2024*

Mailybayeva A.M.*, Akmyrzayev N.Zh., Sagimbayeva A.M., Myrzakhmetov Y.T., Ryskeldinova Sh.Zh., Kopeyev S. K., Yamanova Y.S., Sidikhov R.B., Burashev Y.D., Asanzhanova N.N.

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm», Guardeyskiy, Republic of Kazakhstan

*a.mailybayeva@biosafety.kz

Abstract. This study presents the results of a comprehensive investigation of the biological properties of the highly pathogenic avian influenza virus isolate *A/Cygnus cygnus/Karakol lake/01/2024* (H5N1), obtained during the 2023–2024 outbreak in the Mangystau region of the Republic of Kazakhstan. The pathogenicity of the isolate was evaluated in 6-week-old SPF chickens, along with its reproductive activity in developing chicken embryos. The virus demonstrated high virulence, causing 100% mortality of infected embryos within 48 hours and exhibiting a maximal intravenous pathogenicity index (IVPI = 3.6). These findings confirm that the isolate belongs to the highly pathogenic H5N1 variants.

Keywords: avian influenza, H5N1, IVPI, pathogenicity, virus.