

# Wysoce zjadliwa grypa ptaków H5N1 u dzikich ptaków w Polsce – analiza pierwszych przypadków

ZENON MINTA, KRZYSZTOF ŚMIETANKA, KATARZYNA DOMAŃSKA-BLICHAZ, GRZEGORZ TOMCZYK, TADEUSZ WIJASZKA

Zakład Chorób Drobiu Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Minta Z., Śmietanka K., Domańska-Blicharz K., Tomczyk G., Wijaszka T.

## Highly pathogenic avian influenza H5N1 in wild birds in Poland – analysis of first cases

### Summary

The paper analyzes the first cases of highly pathogenic avian influenza (HPAI) caused by H5N1 subtype in wild birds in Poland. From mid-February, when the H5N1 virus was found in wild birds on Ruegen Island in Germany, the number of samples received by the National Reference Laboratory (NRL) for HPAI diagnosis in Puławy increased significantly. Samples of organs from wild birds (but occasionally from poultry and mammals) were tested by RT-PCR/H5, and in the case of positive results – by RT-PCR/N1 and on SPF embryonated eggs. The first case of H5 was identified on 5<sup>th</sup> of March in 2 dead mute swans in Toruń. Further tests proved it was the highly pathogenic H5N1 virus. The results obtained by the NRL were entirely confirmed by the Community Reference Laboratory in Weybridge, UK. The H5N1-positive swans were part of a flock of 113 mute swans. All birds from that flock were locked up in an aviary on 10<sup>th</sup> of March. On 15<sup>th</sup> of March one swan in the aviary died and was found positive for H5N1. On 28<sup>th</sup> of March, samples of tracheal and cloacal swabs as well as blood samples were collected from 112 live swans and submitted to the NRL. Thirty two swans were H5-positive in RT-PCR test and eighty three swans were serologically positive in the haemagglutination inhibition test with H5 antigen. On 1<sup>st</sup> of April, 80 swans negative in RT-PCR/H5 were released free while 32 swans were euthanized two days later. Subsequent cases of HPAI/H5N1 were found in: Kostrzyń (1 outbreak) in 2 mute swans, 1 hawk and 1 grey heron, Świnoujście (1 outbreak) in 1 goosander, Bydgoszcz (3 outbreaks) in 19 mute swans, Grudziądz (2 outbreaks) in 2 mute swans, and Warta (1 outbreak) in 1 mute swan. Altogether, by the end of June 2006, samples from 1,489 wild birds (multiple species), 113 poultry (chickens, turkeys, ducks, geese, ostriches) and 22 mammals (cats, dogs, polecat, otter) had been tested. The preliminary data suggests a high level of genetic similarity in all isolated Polish H5N1 strains with other H5N1 strains isolated in Europe in 2006 and their homology with strains isolated during a large HPAI H5N1 outbreak at Qinghai Lake in China in 2005.

**Keywords:** avian influenza, H5N1, wild birds

Azjatycki wirus wysoce zjadliwej grypy ptaków (Highly Pathogenic Avian Influenza, HPAI) H5N1 po raz pierwszy wywołał większą epidemię w 1997 r. w Hongkongu (12), a gen hemaglutyniny izolowanego wirusa wykazywał pokrewieństwo z genem H5 wirusa H5N1 izolowanego rok wcześniej w jednym stadzie gęsi w chińskiej prowincji Guangdong (15). Wirus H5N1 pojawiał się w tym regionie cyklicznie w różnych odmianach genotypowych, a pod koniec 2003 r. rozpoczęła się u drobiu największa z dotychczasowych epidemi HPAI (9). Po raz pierwszy od 1961 r., kiedy wirus HPAI H5N3 spowodował śmierć 1300 rybitw, ograniczając jednak swój zasięg do jednego ogniska (8), azjatycki wirus HPAI H5N1 po przedostaniu się do populacji ptaków dzikich nie tylko zabił niespotykaną dotąd ich liczbę, lecz również za po-

średnictwem głównie ptaków migrujących został rozprzestrzeniony do ponad 50 krajów na trzech kontynentach, w tym do Europy.

Geneza epidemii w Europie bierze prawdopodobnie początek w rezerwacie przyrody nad jeziorem Qinghai w Chinach, w miejscu gdzie od kwietnia do lipca 2005 r. stwierdzono masowe padnięcia dzikich ptaków, głównie gęsi tybetańskiej (10). Pomiędzy kwietniem a czerwcem 2005 r. stwierdzono tam ponad 6000 przypadków HPAI/H5N1 u ptaków dzikich. Izolowane szczepy wirusa, występujące w kilku odmianach genotypowych, wykazywały zmienione właściwości w porównaniu z dotychczas izolowanymi w Azji szczepami H5N1 (10, 16), a mechanizmem który doprowadził do tych zmian była prawdopodobnie reasortacja z innym wirusem H5N1 (16). Wykazano

również, iż dzikie ptaki, szczególnie gęsi, mogą przenosić wirusa na dalsze odległości, a tym samym odgrywać znaczącą rolę jako wektor zakażeń (11). W kolejnych miesiącach 2005 r. wirus H5N1 stwierdzono w Mongolii, Rosji, Kazachstanie, a w październiku potwierdzono jego obecność u drobiu w Turcji i Rumunii, a u dzikich ptaków w Chorwacji. W następnych miesiącach inne kraje europejskie potwierdzały obecność HPAI/H5N1 u drobiu i/lub ptaków dzikich (Office Internationale des Epizooties, www.oie.int).

Coraz liczniejsze przypadki (ogniska) HPAI H5N1 stwierdzane od połowy lutego 2006 r. u dzikich ptaków w wielu krajach Europy, w tym bliskich i sąsiadujących z Polską, jak: Austria, Niemcy, Węgry, Słowacja, i wynikające z tego realne zagrożenie pojawienia się wysoce patogenego szczepu H5N1 wirusa AI również w kraju, wpłynęły w sposób zasadniczy na wzrastającą z każdym dniem liczbę próbek dostarczanych do krajowego laboratorium referencyjnego (KLR) ds. diagnostyki grypy ptaków w Zakładzie Chorób Drobiu PIWet-PIB w Puławach do badań w kierunku AI.

Celem badań była analiza przypadków wysoce zjadliwej grypy ptaków wywołanej przez podtyp H5N1 u dzikich ptaków w Polsce w pierwszej połowie 2006 r.

### Materiał i metody

**Próbki do badań wirusologicznych.** Pobierane przez Inspekcję Weterynaryjną próbki pochodziły głównie od znajdujących pojedynczych padłych ptaków dzikich. W przypadku żywych łabędzi niemych umieszczonych w wolieryze w Toruniu, próbki do badań stanowiły wymazy z tchawicy i kloaki. Ponadto sporadycznie przesyłane były próbki narządów od padłego drobiu oraz innych zwierząt (kot, pies, wydra, kuna, tchórz).

**Próbki do badań serologicznych.** Próbki krwi do badań serologicznych pochodziły wyłącznie od łabędzi umieszczonych w wolieryze w Toruniu.

**Izolacja wirusologiczna.** Badanie wykonano wg Instrukcji GLW (1) zgodnie z podręcznikiem diagnostycznym AI (5) stanowiącym załącznik do Dyrektywy Rady 2005/94/EC (2) na zarodkach kurzych SPF. Izolaty wirusowe wykazujące aktywność hemaglutynacyjną (HA) poddawano dalszej identyfikacji.

**Identyfikacja serologiczna izolatów HA.** Izolaty HA identyfikowano serologicznie w teście hamowania hemaglutynacji (HI) przy użyciu surowic referencyjnych dla AIV podtypu H5 i H7, wg Instrukcji GLW (1) zgodnie z podręcznikiem diagnostycznym AI (5).

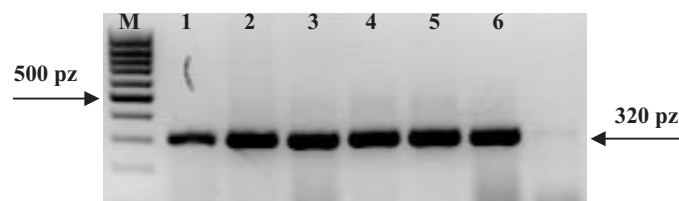
**Identyfikacja molekularna izolatów HA.** Ekstrakcję RNA wykonywano przy użyciu komercyjnego zestawu Rneasy Mini Kit (Qiagen) bezpośrednio z supernatantów po wirowaniu homogenatów narządów lub z płynów owodniowo-omoczniovych zarodków kurzych SPF. Wyizolowane RNA identyfikowano w teście RT-PCR, stosując pary starterów dla genów kodujących H5 (5), a po uzyskaniu wyniku dodatniego ze starterami dla genu N1 wg procedury rekomendowanej przez WHO, w oparciu o metodykę opracowaną przez Wrighta (14) wg modyfikacji własnej. Wielkość produktów PCR wynosiła odpowiednio 300-

-320 pz (H5) i 616 pz (N1). Produkty PCR-H5 poddano sekwencjonowaniu w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie, a następnie przeprowadzono analizę sekwencji aminokwasów miejsca cięcia hemaglutyniny, z którym związana jest patogenność AIV.

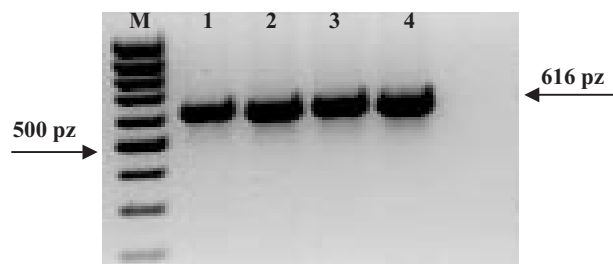
**Test hamowania hemaglutynacji (HI).** Test HI wykonywano metodą mikro wg Instrukcji GLW (1) zgodnej z podręcznikiem diagnostycznym (5). Stosowano 4 jednostki hemaglutynacyjne (HA) antygenów AIV podtypu H5. Za wynik dodatni przyjmowano miano surowicy  $\leq 16$ .

### Wyniki i omówienie

Pierwsze wyniki dodatnie (identyfikacja wirusa AI podtypu H5) uzyskano w teście RT-PCR/H5 (ryc. 1) 4 marca 2006 w późnych godzinach nocnych, o czym poinformowano Głównego Lekarza Weterynarii faksem 5 marca rano. Próbki dodatnie pochodziły od dwóch padłych łabędzi znalezionych 2 marca w Toruniu przy brzegu Wisły (na wysokości Starego Miasta) i dostarczone do KLR 3 marca 2006 r. Dalszą charakterystykę wirusa H5N1 określającą podtyp N1 otrzymano następnego dnia (6.03.) w teście RT-PCR/N1 (ryc. 2) i potwierdzono izolacją wirusa na zarodkach kurzych SPF (7.03.). Dnia 7 marca 2006 r. materiały wirusowe w postaci płynów z zarodków zakażonych (od 2 łabędzi) i dodatkowo supernatant homogenatu narządów trzeciego łabędzia znalezionego 4 marca w tym samym miejscu, co dwa poprzednie (próbki dostarczone 5.03. do KLR), którego badanie w obydwu testach RT-PCR/H5 i N1 (odpowiednio: 5. i 6.03) wysłano ekspresową przesyłką lotniczą (TNT) do referencyjnego laboratorium UE w VLA Weybridge, Wielka Brytania. Otrzymane dnia 13 marca z VLA Weybridge wyniki potwierdziły w pełni badania krajowe-



**Ryc. 1.** Wyniki testu RT-PCR/H5 dla próbek z narządów łabędzi znalezionych w Toruniu w dniu 2.03.2006  
Objaśnienia: M – marker 100 bp; 1 – kontrola dodatnia; 2-6 – próbki badane



**Ryc. 2.** Wyniki testu RT-PCR/N1 dla próbek z narządów łabędzi znalezionych w Toruniu w dniu 2.03.2006.  
Objaśnienia: M – marker 100 bp; 1 – kontrola dodatnia; 2-4 – próbki badane

go laboratorium referencyjnego włącznie z wykonaną w IBB sekwencją aminokwasów w miejscu cięcia białka hemaglutyniny (obecność licznych aminokwasów zasadowych typowa dla wirusów HPAI), że jest to wirus HPAI H5N1.

W związku z liczną grupą łabędzi przebywających na obszarze pierwszego rozpoznanego ogniska HPAI H5N1, Powiatowy Lekarz Weterynarii w Toruniu w porozumieniu z Głównym Lekarzem Weterynarii podjął decyzję o ich czasowym odosobnieniu, celem wykonania badań dla oceny ich statusu epidemiologicznego. W dniu 10 marca w trakcie umieszczania grupy 113 łabędzi w wolierze zbudowanej przy nabrzeżu Wisły pobrano losowo od 25 sztuk wymazy kałowe z kloaki do badań wirusologicznych i uzyskano 6 wyników dodatnich w teście RT-PCR/H5 (11.03). Dnia 15 marca w wolierze padł 1 łabędź, u którego stwierdzono wirus HPAI H5N1, nie różniący się genetycznie od wirusów izolowanych wcześniej od łabędzi z tego stada (17.03.). Kolejne badanie stada w wolierze objęło wszystkie łabędzie, od których 28 marca pobrano indywidualnie wymazy z tchawicy i wymazy kałowe z kloaki oraz krew (próbki pobierał zespół pracowników naukowych z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW oddelegowany przez prof. Piotra Szeleszczuka, pod nadzorem Powiatowego Lekarza Weterynarii w Toruniu – lek. wet. Doroty Stankiewicz). Badaniem RT-PCR/H5 obecność materiału genetycznego wirusa AI podtypu H5 stwierdzono u 32 łabędzi (28,6%), natomiast badając surowice w teście HI obecność przeciwciał anti-H5 wykazano u 83 ptaków (74%), przy czym 20 ptaków (24,1%) było dodatnich zarówno w badaniu wirusologicznym, jak i serologicznym\*. W związku z zagrożeniem zatopienia woliery z łabędziami przez zbliżającą się falę powodziową na Wiśle decyzją Głównego Lekarza Weterynarii 80 łabędzi negatywnych w badaniu wirusologicznym dnia 1 kwietnia 2006 uwolniono z woliery, natomiast pozostałe 32 łabędzie będące nosicielami wirusa HPAI H5N1 zostały poddane eutanazji (3.04.2006).

Kolejne ogniska HPAI H5N1 u dzikich ptaków, zlokalizowane w zachodniej i centralnej Polsce, wykryto w okresie od 10 marca do 7 maja 2006. Ogółem do 5 czerwca 2006 stwierdzono 9 ognisk na terenie 6 powiatów: toruński (1 ognisko od 5.03.\*\*), gorzowski (1 ognisko od 10.03.), świnoujski (1 ognisko – 11.03.), bydgoski (3 ogniska od 11.03.), grudziądzki (2 ogniska od 28.03), sieradzki (1 ognisko – 7.05.). Zakażenie wirusem HPAI H5N1 stwierdzono ogółem u 64 ptaków dzikich: 61 łabędzi niemych (29 padłych i 32 żywe), 1 jastrzębia, 1 tracza nurogęsi i 1 czapli siwej). Szczegółowe dane dotyczące poszczególnych przypadków HPAI przedstawiono w tabeli 1.

Stwierdzenie wysoce zjadliwej grypy ptaków H5N1 u dzikich ptaków na wyspie Rugia w Niemczech

\* Dofinansowano ze środków Narodowego Funduszu Środowiska i Gospodarki Wodnej na zamówienie Ministra Środowiska.

\*\* Data rozpoznania pierwszego przypadku w ognisku.

Tab. 1. Charakterystyka ognisk HPAI H5N1 u ptaków dzikich w Polsce (stan na 30.06.2006)

Miejscowość (liczba ognisk)	Data pierwszego rozpoznanego przypadku	Liczba i gatunek zakażonych ptaków
Toruń (1)	05.03.2006	37 łabędzi niemych (32 żywe i 5 padłych)
Kostrzyń nad Odrą (1)	10.03.2006	2 łabędzie nieme, 1 jastrząb, 1 czapla siwa
Świnoujście (1)	11.03.2006	1 tracza nurogęs
Bydgoszcz (3)	11.03.2006	19 łabędzi niemych
Grudziądz (2)	28.03.2006	2 łabędzie nieme
Warta (1)	07.05.2006	1 łabędź niemy

w połowie lutego 2006 roku dało uzasadnione podstawy do przypuszczeń, że wkrótce choroba pojawi się w Polsce.

Dlatego, poza planowymi badaniami dzikich ptaków w okresie ich wiosennej migracji w ramach krajowego programu badań monitoringowych w kierunku zakażeń wirusami AI u drobiu i ptaków dzikich lawinowo wzrastała z dnia na dzień liczba badań diagnostycznych w kierunku AI pojedynczych (1-3 sztuki znalezione w tym samym miejscu i czasie) padłych dzikich ptaków. I tak w styczniu dostarczono próbki od 5 ptaków, w lutym już od 253 (z tego 249 w drugiej połowie lutego) sztuk, natomiast szczytowym miesiącem był marzec, kiedy liczba badanych ptaków osiągnęła poziom 1022 sztuk (w tym łabędzie żywe zamknięte w wolierze nad Wisłą w Toruniu), a rekordowym dniem był 29.03. kiedy przyjęto do badań wirusologicznych 262 próbki od 150 ptaków. W następnych trzech miesiącach liczba badanych ptaków dzikich już wyraźnie zmniejszała się: 152 sztuki w kwietniu, 40 sztuk w maju i tylko 5 ptaków w czerwcu. Ogółem, w okresie od 10 stycznia do 30 czerwca 2006 r. w ramach bieżących badań diagnostycznych w kierunku AI, z uwzględnieniem HPAI H5N1, przebadano 1489 sztuk dzikich ptaków, 113 sztuk drobiu (kury, indyki, kaczki, gęsi i strusie) i 22 próbki od ssaków (kot, pies, wydra, tchórz). Wśród ptaków dzikich najliczniejszym gatunkiem były łabędzie (617 sztuk) i dzikie kaczki (315 sztuk). W okresie największego nasilenia badań włączane były rezerwowe zespoły diagnostyczne, przewidziane w planach gotowości, z Pracowni Diagnostyki Chorób Wirusowych Drobiu i Zakładu Wirusologii PIWet-PIB.

Szybkie rozpoznanie pierwszych i następnych ognisk HPAI H5N1 u dzikich ptaków w kraju możliwe było dzięki wdrożeniu przez krajowe laboratorium referencyjne do diagnostyki grypy ptaków metod biologii molekularnej, jak RT-PCR dla genów NP i M (wykrywanie wszystkich wirusów AI) i dla genów podtypu H5 i H7 oraz N1. Zdolności diagnostyczne KLR zostały w pełni potwierdzone przez laboratorium referencyjne UE, zarówno pod względem identyfikacji wirusa H5N1, jak również charakterystyki patogenności.

Zgodnie z Decyzją Komisji 2006/115/EC (4) na terenie, gdzie rozpoznano ognisko HPAI H5N1 ustanawiano obszary ochronne: zapowietrzony (o promieniu 3 km) i zagrożony (o promieniu 10 km) w celu zapobieżenia rozprzestrzenieniu się wirusa grypy ptaków z dzikich ptaków na drób. W wyznaczonych obszarach sporządzano spis gospodarstw utrzymujących drób i przeprowadzano w nich kontrolę stanu zdrowotnego drobiu, a także stosowano wzmożone środki zabezpieczenia biologicznego. Nie odnotowano przypadków nasuwających podejrzenie zakażenia drobiu wirusem AI.

Ustalenie źródła/pochodzenia wirusa H5N1 w Polsce nie jest łatwe. Wprawdzie ogniska rozpoznane w Kostrzynie i Świnoujściu mogą sugerować, że został on przyniesiony za pośrednictwem migrujących dzikich ptaków z zachodniej części Europy, np. z wyspy Rugia, gdzie od 14 lutego 2006 r. notowano liczne przypadki HPAI H5N1 u łabędzi, to nie można tego jednoznacznie wykazać, gdyż ptaki badane w Polsce, u których stwierdzono wirus H5N1 nie posiadały żadnych znaczków identyfikacyjnych umożliwiających ewentualne ustalenie ich tras wędrówek. Wstępna analiza filogenetyczna wskazuje, że szczepy wirusa H5N1 izolowane od dzikich ptaków w różnych regionach kraju mają ten sam profil molekularny i wykazują też wysoki stopień homologii z wirusami HPAI H5N1 izolowanymi w Europie, Azji, na Syberii, jak również z wirusami izolowanymi od dzikich ptaków nad jeziorem Qinghai w Chinach (dane niepublikowane).

Podobnie jak w innych krajach Europy, zdecydowana większość przypadków HPAI H5N1 dotyczyła łabędzi niemych, jednak przyczyna większej wrażliwości tego właśnie gatunku jest dotychczas nieznana. Chociaż zdecydowana większość próbek dodatnich pochodziła od ptaków padłych, nie jest pewne, czy przyczyną ich śmierci był zawsze wirus H5N1. Można przypuszczać, że poza niewątpliwym wpływem zjadliwości wirusa HPAI H5N1 w patogenezie tej choroby u dzikich ptaków odgrywają również inne czynniki, w tym ilość wirusa zakażającego, a także gatunek ptaka i jego status zdrowotny (w końcu sezonu zimowego ogólna kondycja większości padłych ptaków była zwykle słaba). Wskazują na to badania żywych łabędzi stada w Toruniu, które mimo zakażenia (dodatnia serokonwersja u większości i/lub bardzo mała ilość wirusa w wymazach z tchawicy i kloaki u części ptaków) pozostawały klinicznie zdrowe. Tylko u pojedynczych łabędzi (jeden z dwóch pierwszych, u których rozpoznano HPAI H5N1 i jeden z zamkniętych w woliery) obserwowano mało specyficzne objawy kliniczne (osowienie, odstawanie od stada, brak apetytu) poprzedzające śmierć. Również zmiany anatomopatologiczne nie były patognomiczne dla HPAI.

Ostatni przypadek HPAI H5N1 wystąpił w Europie w sierpniu 2006 r. (stan na 30.11.2006). Jednak biorąc pod uwagę cykliczność występowania epidemii HPAI w Azji, a także w Rosji, nie można wykluczyć, iż

w kolejnych miesiącach, zwłaszcza w okresach intensywnej migracji wiosennej i jesiennej ptaków dzikich, wirus HPAI H5N1 może ponownie być stwierdzony na terytorium Polski. Nie należy również lekceważyć możliwości wprowadzenia wirusa za pośrednictwem nielegalnego handlu zakażonym drobiem lub produktami drobiowymi, a nawet przemytu ptaków dzikich lub produktów drobiarskich (7, 13). W pełni uzasadniona jest zatem kontynuacja działań minimalizujących ryzyko ponownego pojawienia się wirusa grypy ptaków H5N1 w Polsce, który nadal stanowi największe zagrożenie dla produkcji drobiarskiej.

## Piśmiennictwo

1. Anon.: Instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii Nr GIWz VI. 420/lab – 1/2003 z dnia 5 czerwca 2003 dotycząca przeprowadzania badań laboratoryjnych w kierunku grypy ptaków o wysokiej zjadliwości (d. pomór drobiu).
2. Anon.: Council Directive 2005/94/EC of 20 December 2005 introducing community measures for the control of avian influenza and repealing 92/40 EEC. Official Journal of European Commission, 2005, L 10, 16-65.
3. Anon.: Commission Decision 2006/101/EC on the implementation of survey programmes for avian influenza in poultry and wild birds to be carried out in the Member States in 2006 Off. J. Eur. EU, L 46, 40-46.
4. Anon.: Commission Decision 2006/115/EC of 17 February 2006 concerning certain protection measures in relation to highly pathogenic avian influenza in wild birds in the Community and repealing Decision 2006/86/EC, 2006/90/EC, 2006/94/EC, 2006/104/EC and 2006/105/EC. Off. J. Eur. EU, L 48, 28-34.
5. Anon.: Commission Decision 2006/437/EC approving a Diagnostic Manual for avian influenza as provided for in Council Directive 2005/94/EC. Off. J. Eur. EU, L 237, 1-27.
6. Anon.: Office International des Epizooties (OIE). Highly pathogenic avian influenza. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, Version adopted May 2005, 2.1.14, 258-269.
7. Beato M. S., Terregino C., Cattoli G., Capua I.: Isolation and characterization of an H10N7 avian influenza virus from poultry carcasses smuggled from China into Italy. Avian Pathol 2006, 35, 400-403.
8. Becker W. B.: The isolation and classification of tern virus: influenza virus A/tern/SouthAfrica/1961. J. Hygiene 1966, 64, 309-320.
9. Capua I., Alexander D.: Avian influenza: recent developments. Avian Pathol 2004, 33, 393-404.
10. Chen H., Li Y., Li Z., Shi J., Shinya K., Deng G., Qi Q., Tian G., Fan S., Zhao H., Sun Y., Kawaoka Y.: Properties and dissemination of H5N1 viruses isolated during an influenza outbreak in migratory waterfowl in western China. J. Virol. 2006, 80, 5976-5983.
11. Chen H., Smith G. J., Zhang S. Y., Qin K., Wang J., Li K. S., Webster R. G., Peiris J. S., Guan Y.: Avian flu: H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. Nature 2005, 436, 191-192.
12. Shortridge K. F., Zhou N. N., Guan Y., Gao P., Ito T., Kodihalli S., Krauss S., Markwell D., Murti K. G., Norwood M., Senne D. A., Sims L., Takada A., Webster R. G.: Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. Virology 1998, 252, 331-342.
13. Van Borm S., Thomas I., Hanquet G., Lambrecht B., Boschmans M., Dupont G., Decaestecker M., Snacken R., van den Berg T.: Highly pathogenic H5N1 influenza virus in smuggled Thai eagles, Belgium. Emerg. Infect. Dis. 2005, 11, 702-705.
14. Wright K. E.: Typing and subtyping of influenza viruses in clinical samples by PCR. J. Clin. Microbiol. 1995, 33, 1180-1184.
15. 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, 261, 15-19.
16. Zhou J. Y., Shen H. G., Chen H. X., Tong G. Z., Liao M., Yang H. C., Liu J. X.: Characterization of a highly pathogenic H5N1 influenza virus derived from bar-headed geese in China. J. Gen. Virol. 2006, 87, 1823-1833.