

# Przypadki wysoce zjadliwej grypy ptaków H5N1 w Polsce w 2007 roku

KRZYSZTOF ŚMIETANKA, ZENON MINTA, KATARZYNA DOMAŃSKA-BLICHAZ,  
GRZEGORZ TOMCZYK, TADEUSZ WIJASZKA, JANUSZ ZWIĄZEK\*,  
ZOFIA BATORCZAK\*\*, LUDWIK BARTOSZEWICZ\*\*\*

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

\*Główny Inspektorat Weterynarii, ul. Wspólna 30, 00-930 Warszawa

\*\*Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Warszawie z siedzibą w Siedlcach, ul. Kazimierzowska 29, 08-110 Siedlce

\*\*\*Wojewódzki Inspektorat Weterynarii w Olsztynie, ul. Szarych Szeregów 7, 10-072 Olsztyn

Śmietanka K., Minta Z., Domańska-Blicharz K., Tomczyk G.,  
Wijaszka T., Związek J., Batorczak Z., Bartoszewicz L.

## Highly pathogenic avian influenza H5N1 cases in Poland in 2007

### Summary

The aim of the paper is to describe outbreaks of highly pathogenic avian influenza (HPAI) caused by H5N1 subtype in December 2007 in Poland. Between 1st-22nd of December, the H5N1 virus was detected in 9 poultry holdings (2 meat turkey holdings, 3 commercial layer farms and 4 free-ranging flocks) and in wild birds kept in captivity (2 buzzards and 1 white stork in an avian asylum). Laboratory diagnostic methods included real time RT-PCR targeting Matrix H5 and N1 genes, with subsequent confirmation by virus isolation, serological identification, conventional RT-PCR and sequencing. All outbreaks occurred in the Mazowieckie and Warmińsko-Mazurskie voivodships. The clinical signs in poultry were typical of HPAI, but the average mortality was rather low (usually below 1%) due to rapid reporting, diagnosis and quickly applied control measures. Epidemiological investigation revealed that the meat from one turkey flock and eggs from one layer flock entered the market. All poultry products from the infected farms were withdrawn from the shops and wholesalers and destroyed. As an effect of the applied control measures, approximately 1 million birds were culled and the economical losses exceeded 12 mln PLN. The source of the outbreaks is inconclusive: possibly wild birds in the case of the first infected farms, but the role of humans in the further spread of the disease across the country is probable and based on reliable assumptions. Preliminary phylogenetic analysis based on the haemagglutinin gene suggests a close relationship of the Polish isolates to H5N1 isolated in Europe and Middle East in the second half of 2007.

**Keywords:** avian influenza, H5N1, poultry

Wysoce zjadliwa grypa ptaków (Highly pathogenic avian influenza, HPAI) wywołana przez podtyp H5N1 wirusa AI stanowi od kilku lat główny problem epidemiologiczny i ekonomiczny dla produkcji drobiarskiej w wielu rejonach świata, głównie południowo-wschodniej Azji, Europie i Afryce (1). Pandemia HPAI/H5N1 jest największą w ciągu ostatnich 50 lat – przypadki choroby stwierdzano w ponad 60 krajach świata i dotychczas padło lub zlikwidowano ponad 220 milionów ptaków (15). Oprócz ptaków hodowlanych i dzikich zakażeniu ulegać mogą również niektóre ssaki i człowiek (7). W wyniku zakażenia wirusem H5N1 od 2003 r. odnotowano 387 przypadków u ludzi, z czego 245 zakończyło się śmiercią (stan na 29.09.2008 r., wg danych WHO, [www.who.int](http://www.who.int)). Od momentu pojawienia się wirusa H5N1 w Chinach w 1996 r. (17) wirus

uległ licznym zmianom genetycznym prowadzącym do powstania różnych wariantów genotypowych, a od 2004 roku dominujący stał się genotyp „Z” wirusa H5N1. Jedną z odmian genotypu „Z” są wirusy tzw. linii Qinghai, które pojawiły się w 2005 r. w Chinach, a następnie przedostały do Europy i Afryki (16). Wirus HPAI podtypu H5N1 został wykryty w Polsce w 2006 r. u dzikich ptaków (10). W miesiącach marzec-maj odnotowano ogółem 64 przypadki, głównie u łabędzi, lecz również u jastrzębia, czapli siwej i tracza nurogęsia (10). W 2007 r. obecność choroby stwierdzano w kilku krajach europejskich zarówno u drobiu, jak również u ptaków wolno żyjących, a pod koniec roku wirus HPAI/H5N1 ponownie pojawił się w Polsce, tym razem po raz pierwszy u drobiu.

W opracowaniu scharakteryzowano przypadki HPAI/H5N1 u drobiu i ptaków wolno żyjących utrzymywanych w zamknięciu, rozpoznane w grudniu 2007 r. w Polsce.

### Material i metody

**Próbki do badań molekularnych oraz wirusologicznych.** Od ptaków podejrzanych o zakażenie wirusem H5N1 pobierane były próbki narządów wewnętrznych, głównie płuca, tchawica, wątroba, śledziona, nerki i jelita z treścią pokarmową. Od drobiu i ptaków dzikich, nie wykazujących objawów klinicznych choroby, lecz znajdujących się w gospodarstwach na obszarze stref ochronnych, pobierano wymazy z tchawicy i kloaki.

**Próbki do badań serologicznych.** Próbki krwi do badań serologicznych pochodziły od ptaków dzikich utrzymywanych w zamknięciu w azylu dla ptaków w miejscowości Krzykały (powiat lidzbarski) oraz od drobiu i świń klinicznie zdrowych z gospodarstw znajdujących się na terenie stref ochronnych.

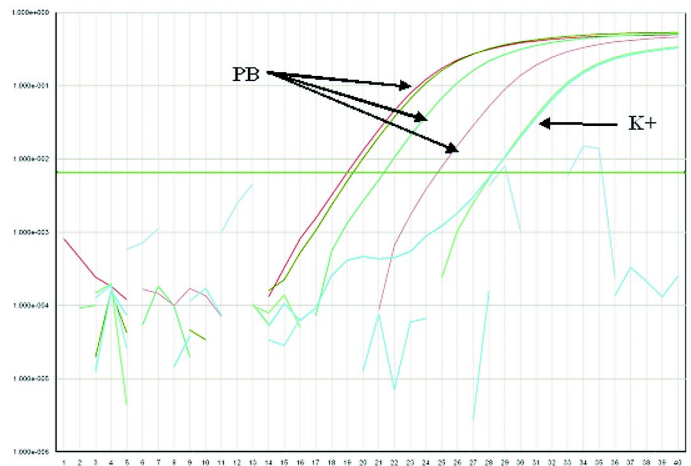
**Real time RT-PCR (RRT-PCR) i RT-PCR konwencjonalny.** Badania przeprowadzono wg procedur własnych, zgodnych z wytycznymi Wspólnotowego Laboratorium Referencyjnego (WLR) ds. grypy ptaków w VLA Weybridge, Wielka Brytania (11-14). Ekstrakcję RNA wykonywano przy użyciu komercyjnego zestawu RNeasy Mini Kit (Qiagen) bezpośrednio z supernatantów po wirowaniu homogenatów narządów, wymazów z tchawicy lub kloaki albo z płynów owodniowo-omocznionych zakażonych zarodków kurzych SPF. RNA badano następnie metodą RRT-PCR, stosując startery dla genów M (wszystkie wirusy AI typu A), H5 i N1. W przypadku uzyskania wyniku dodatniego próbkę badano ponownie przy użyciu metody RT-PCR konwencjonalnej dla genu H5 (wielkość produktu PCR: 300-320 pz). Produkty PCR-H5 poddawano sekwencjonowaniu w Instytucie Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie oraz Zakładzie Mikrobiologii PIWet-PIB, a następnie analizowano sekwencje aminokwasów miejsca cięcia hemaglutyniny w celu określenia patogenności izolatów AIV, stosując program komputerowy Mega 3.1 (9).

**Izolacja i identyfikacja wirusologiczna.** Badanie wykonano wg Instrukcji Głównego Lekarza Weterynarii (GLW) (4), zgodnej z podręcznikiem diagnostycznym grypy ptaków (2), na zarodkach kurzych SPF. Badano tylko próbki, dla których uzyskano wynik dodatni metodą real time RT-PCR. Izolaty wirusowe wykazujące aktywność hemaglutynacyjną identyfikowano serologicznie w teście hamowania hemaglutynacji przy użyciu surowic referencyjnych dla AIV podtypu H5 i H7, zgodnie z Instrukcją GLW (4).

**Test hamowania hemaglutynacji (HI).** Test HI wykonywano metodą mikro wg Instrukcji GLW (4), zgodnej z podręcznikiem diagnostycznym (2). Stosowano 4 jednostki hemaglutynacyjne (HA) antygenów AIV podtypu H5. Za wynik dodatni przyjmowano miano surowicy  $\geq 16$ .

### Wyniki i omówienie

W dniu 30.11.2007 r. około godziny 20.30 otrzymano do badań próbki narządów padłych indyków rzeźnych w wieku 16 tygodni (liczebność stada: 1085 sztuk) i 12 tygodni (o liczebności stada 8600 szt.), z ferm znaj-



Ryc. 1. Wyniki badań próbek z pierwszego ogniska HPAI/H5N1 metodą RRT-PCR/M (PB – próbki badane; K+ – kontrola dodatnia)

dujących się w miejscowościach Myśliborzyce i Uniejewo w powiecie płockim (województwo mazowieckie). W obydwu stadach zaobserwowano osowienie, utratę apetytu, obrzęki głowy, wybroczyny i wynaczenia w skórze głowy i szyi, zmiany krwotoczne w płucach, śledzionie, trzustce i dwunastnicy. Pierwsze wyniki dodatnie metodą RRT-PCR/M uzyskano około godz. 24.00 (ryc. 1). Wyniki dodatnie metodą RRT-PCR/H5 i RRT-PCR/N1, uzyskane, odpowiednio, o godzinie 3.00 i 5.00 rano 1 grudnia, były na bieżąco przekazywane telefonicznie Głównemu Lekarzowi Weterynarii. Dnia 1.12.2007 r. w godzinach rannych PIWet-PIB przesłał faksem do GLW, Wojewódzkiego Inspektoratu Weterynarii w Siedlcach i Powiatowego Inspektoratu Weterynarii w Płocku sprawozdania z badań molekularnych stwierdzające wykrycie wirusa H5N1 w Polsce. W kolejnych dniach wyniki potwierdzono metodą izolacji na zarodkach kurzych oraz serologicznej identyfikacji metodą hamowania hemaglutynacji i metodą konwencjonalną RT-PCR/H5. Dnia 4.12.2007 r. wykryto ognisko wtórne w stadzie przyzagrodowym znajdującym się w bezpośrednim sąsiedztwie jednej z zakażonych ferm indyków. Wyniki analizy sekwencjonowania miejsca cięcia HA krajowych izolatów H5N1 ujawniły profil aminokwasowy PQGERR-RKKR\*GLF typowy dla wirusów wysoce patogennych. Wstępna analiza filogenetyczna pozwoliła ustalić bliskie pokrewieństwo pierwszych izolatów H5N1 z innymi wirusami H5N1 izolowanymi w Europie w drugiej połowie 2007 roku. Wyniki uzyskane przez Krajowe Laboratorium Referencyjne (KLR) w Puławach zostały 8.12.2007 r. w pełni potwierdzone przez WLR ds. AI w Weybridge.

W toku przeprowadzonego dochodzenia epidemiologicznego stwierdzono, iż w dniach poprzedzających przesłanie próbek do laboratorium z obydwu ferm wysłano ogółem ok. 7500 indyków do rzeźni, znajdującej się na terenie województwa warmińsko-mazurskiego. Podczas transportu indyków z fermy w Uniejewie do rzeźni stwierdzono tylko pojedyncze padnięcia, nato-

Tab. 1. Charakterystyka ognisk HPAI/H5N1 w Polsce w 2007 roku

Miejscowość (powiat)	Data rozpoznania	Gatunek	Wiek	Liczba ptaków	Liczba ptaków padłych
Myśliborzycze (płocki)	1.12.	indyki rzeźne	16 tyg.	1085	60
Uniejewo (płocki)	1.12.	indyki rzeźne	12 tyg.	8600	300
Myśliborzycze (płocki)	4.12.	kury, kaczki	15 tyg.	15	2
Karniszyn (żuromiński)	8.12.	kury nioski towarowe	22 tyg.	119 000	610
Sadłowo (żuromiński)	10.12.	kury nioski towarowe	20 tyg.	385 000	209
Krzykały (lidzbarski)	11.12.	bocian biały, myszołowy	nn.	15	3
Łęпно (elbląski)	12.12.	kury, kaczki	różny	39	9
Łęпно (elbląski)	12.12.	kury, kaczki, gęsi	różny	165	7
Miłakowo (ostródzki)	12.12.	kury	różny	8	5
Sadłowo-Parcelle (żuromiński)	22.12.	kury nioski towarowe	24 tyg.	185 000	20

miast podczas badania poubojowego nie zaobserwowano żadnych zmian anatomopatologicznych i mięso trafiło na rynek. Odmienną sytuację odnotowano w przypadku indyków z fermy w Myśliborzycach, gdzie w transporcie padło 170 ptaków, a podczas badania poubojowego stwierdzono zmiany wskazujące na chorobę zakaźną, co doprowadziło do konfiskaty 233 tuszek, 19 kg wątrób oraz zabezpieczenia w rzeźni wszystkich pozostałych tuszek pochodzących z tej fermy, w liczbie 5072 szt. Jednocześnie zgłoszono podejrzenie choroby zakaźnej. Dzięki szybko przeprowadzonym badaniom diagnostycznym w KLR oraz sprawnej akcji Inspekcji Weterynaryjnej do 4 grudnia zidentyfikowano wszystkie sklepy i hurtownie, do których trafiło mięso z fermy w Uniejewie, po czym przeprowadzono jego utylizację. Również wszystkie zabezpieczone w rzeźni tuszki pochodzące z indyków z fermy w Myśliborzycach poddano utylizacji. Kolejnym regionem, w którym pojawiła się grypa ptaków wywołana przez wirus H5N1, był powiat żuromiński, gdzie 8.12.2007 r. w miejscowości Karniszyn ognisko choroby wykryto w fermie kur niosek towarowych w wieku 22 tygodni. W stadzie liczącym 119 000 ptaków odnotowano nagłe, choć niezbyt liczne padnięcia (610 sztuk). Objawy i zmiany sekcyjne, m.in. zasinienie grzebienia i zmiany krwotoczne w narządach wewnętrznych, wskazywały na możliwość zakażenia wirusem HPAI, co potwierdzono w KLR. Ze stada w Karniszynie na rynek przedostały się jaja konsumpcyjne, które natychmiast wycofano i zniszczono. Dwa dni później wykryto ognisko w Sadłowie (ok. 3 km od Karniszyna) w fermie kur niosek towarowych w wieku 20 tygodni, liczącej ponad 385 000 ptaków (padło 209 sztuk). Objawy kliniczne i zmiany sekcyjne były podobne do zaobserwowanych u kur

w Karniszynie. Ostatnie ognisko HPAI/H5N1 w powiecie żuromińskim (jednocześnie ostatni przypadek w kraju) rozpoznano 22.12.2007 r. w miejscowości Sadłowo-Parcelle. W tym przypadku wirus H5N1 wykryto również w stadzie kur niosek towarowych w wieku 24 tygodni, o liczebności ok. 185 000 sztuk. Wszystkie przypadki HPAI/H5N1 w powiecie żuromińskim miały miejsce w dużych przemysłowych fermach kur niosek. Klatkowy system chowu tych ptaków w dużym stopniu tłumaczy stosunkowo wolne rozprzestrzenianie choroby w stadzie, wyrażone niewielką liczbą ptaków padłych. Innym powodem stosunkowo niskiego odsetka śmiertelności było szybkie zgłoszenie przez hodowców problemów w stadzie oraz natychmiast podjęte działania administracyjne (wybijanie ptaków).

Kolejnym regionem, gdzie wystąpiła grypa ptaków H5N1, było województwo warmińsko-mazurskie. W Krzykałach (powiat lidzbarski) wirus H5N1 wykryto 11.12.2007 r. w próbkach narządów pochodzących od 2 myszołowów i 1 bociana białego, przebywających w azylu dla ptaków na terenie leśniczówki. Źródłem zakażenia było prawdopodobnie skarmianie ptaków dzikich odpadkami z rzeźni, gdzie ubijano indyki z Uniejewa. Ponieważ nie uzyskano zgody Ministerstwa Środowiska na eutanazję pozostałych 15 ptaków przebywających w azylu, przeprowadzono dwukrotne (w odstępie ok. miesiąca) badania wszystkich ptaków metodą RRT-PCR (wymazy z tchawicy i kloaki) oraz HI (krew), lecz nie stwierdzono wyników dodatnich. W dniach 12-17.12.2007 r. potwierdzono obecność HPAI/H5N1 w 3 stadach przyzagrodowych drobiu w miejscowościach Łęпно i Miłakowo w powiatach elbląskim i ostródzkim. Wszystkie te stada liczyły ogółem około 200 ptaków (głównie kur) w różnym wieku. Właścicielem jednego ze stad był kierowca przewożący do rzeźni zakażone indyki z pierwszych ognisk HPAI/H5N1 z powiatu płockiego. Szczegółową charakterystykę ognisk HPAI/H5N1 rozpoznanych w dniach 1-22.12.2007 r. przedstawiono w tabeli 1.

Podjęte niezwłocznie po rozpoznaniu HPAI/H5N1 administracyjne środki zwalczania były zgodne z opisanymi w Dyrektywie 2005/94/WE (3) oraz Rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (5) i obejmowały m.in. urzędowy nadzór w ogniskach choroby, ustanowienie stref ochronnych w postaci okręgów zapowietrzonych o promieniu 3 km i zagrożonych o promieniu 10 km, wybijanie ptaków w fermach zakażonych, zniszczenie jaj, drobnego sprzętu, paszy, mycie i dezynfekcję, wstrzymanie lub ograniczenie przemieszczania ludzi i zwierząt w strefach ochronnych, wydłużenie okresu pomiędzy wybijaniem stad i ponownym zasiedlaniem obiektów. Do eutanazji stad drobiu w fermach przemysłowych użyto dwutlenku węgla, a w stadach przyzagrodowych – pentobarbitalu sodu. W ra-

mach badań kontrolnych w strefach ochronnych przebadano w kierunku AI-H5 z wynikiem ujemnym ok. 1500 próbek od ptaków i 48 próbek od świń z ponad 100 gospodarstw. Ogółem w czasie tej pierwszej w kraju epidemii HPAI H5N1 u drobiu padło i zlikwidowano ponad 900 000 ptaków, a straty materialne wyniosły ponad 12 200 000 PLN.

Zgodnie z procedurą rutynowej diagnostyki laboratoryjnej AI do momentu wykrycia pierwszego ogniska HPAI/H5N1 próbki badane były metodą RRT-PCR/M, wykrywającą wszystkie wirusy grypy typu A. Po uzyskaniu wyniku dodatniego, w kolejnych etapach badanie kontynuowano przy użyciu metody RRT-PCR wykrywającej gen H5, a następnie przy wyniku dodatnim – gen N1 wirusa AI. Z chwilą stwierdzenia w kraju pierwszych przypadków HPAI/H5N1 cykl diagnostyczny uległ modyfikacji polegającej na badaniu próbek w pierwszej kolejności metodą RRT-PCR/H5, a następnie dla potwierdzenia i pełnej identyfikacji wirusa AI metodami RRT-PCR/N1 i RRT-PCR/M. Podyktowane to było względami czasowymi – w tym przypadku wykrycie wirusa H5 w trakcie trwania epidemii wywołanej przez rozpoznany już podtyp AI było priorytetem. Rutynowy schemat diagnostyczny pozwala, co prawda, na wykazanie, czy w badanym materiale znajduje się jakikolwiek wirus AI, jednak wydłuża to czas ostatecznego rozpoznania.

W każdym przypadku badano w RRT-PCR oddzielnie homogenaty z narządów mięsnych i z jelit. Generalnie niższą wartość Ct („cycle threshold”), świadcząca o większej ilości wirusa uzyskano w materiale z narządów mięsnych. Mniejszą ilość materiału genetycznego AIV wykrywaną w próbkach z jelit tłumaczyć można m.in. obecnością inhibitorów reakcji PCR w treści przewodu pokarmowego (8).

Nie jest łatwe ustalenie źródła zakażenia w fermach indyków w powiecie płońskim (pierwotne ogniska HPAI/H5N1). Hipotetycznie mogły to być odchody ptaków dzikich, którymi zanieczyszczona była pasza, za czym przemawiałyby również fakt, iż wirus HPAI H5N1 wykrywano w 2007 r. w próbkach od martwych ptaków wolno żyjących w Czechach, Niemczech i Francji (Raporty Komisji UE). Z kolei badanie pokrewieństwa filogenetycznego nie daje jednoznacznej odpowiedzi na to pytanie, gdyż polskie izolaty są w jednakowym stopniu podobne do szczepów izolowanych w Europie zarówno od ptaków dzikich, jak i od drobiu (dane niepublikowane). Również dość zagadkowa i niewyjaśniona jest bardzo niska liczba próbek H5N1-dodatnich, pobieranych od żywych ptaków migrujących (tylko jeden przypadek u dzikiej kaczki w Szwajcarii w ostatnich kilkunastu miesiącach). Natomiast powiązania epidemiologiczne pomiędzy ogniskami w województwie mazowieckim i warmińsko-mazurskim a przypadkami w Myśliborzycach i Uniejewie związane były najprawdopodobniej z rozprzestrzenieniem wirusa w wyniku transportu zakażonych indyków z tych ognisk do rzeźni. W kilku przypadkach istnieją przesłanki, oparte na

solidnych podstawach (dochodzenie epidemiologiczne), o roli człowieka w rozprzestrzenianiu wirusa H5N1.

Przypadki HPAI/H5N1 wykryte po raz pierwszy u drobiu w Polsce potwierdziły, z jednej strony, iż możliwość wprowadzenia do obrotu mięsa i produktów drobiarskich pochodzących z zakażonych stad jest realnym zagrożeniem. Z drugiej strony, szybko przeprowadzone rozpoznanie choroby w oparciu o nowoczesne, zwalidowane metody biologii molekularnej (real time PCR), jak również natychmiastowe działania Inspekcji Weterynaryjnej w połączeniu z wyważoną, lecz rzetelną kampanią informacyjną, umożliwiły zredukowanie do minimum ryzyka zagrożenia dla zdrowia publicznego.

## Piśmiennictwo

1. Alexander D. J.: Summary of avian influenza activity in Europe, Asia, Africa, Australasia, 2002-2006. *Avian Dis.* 2007, 51, 161-166.
2. Anon.: Commission Decision of 4 August 2006 approving a Diagnostic Manual for avian influenza as provided for in Council Directive 2005/94/EC. *Off. J. Eur. Union L* 237/1-27.
3. Anon.: Council Directive 2005/94/EC of 20 December 2005 on Community measures for the control of avian influenza and repealing Directive 92/40/EEC. *Off. J. Eur. Union* 2006, L 10/16-65.
4. 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).
5. Anon.: Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 1 grudnia 2007 r. w sprawie zarządzenia środków związanych z wystąpieniem grypy ptaków. *Dz. U. Nr* 225, 2007, poz. 1665.
6. Anon.: Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 grudnia 2007 r. w sprawie zwalczania grypy ptaków. *Dz. U. nr* 239, 2007, poz. 1752.
7. Capua I., Alexander D. J.: Ecology, epidemiology and human health implications of avian influenza viruses: why do we need to share genetic data? *Zoonoses Public Health* 2008, 55, 2-15.
8. Cattoli G., Terregino C.: New perspectives in avian influenza diagnosis. *Zoonoses Public Health* 2008, 55, 24-28.
9. Kumar S., Tamura K., Nei M.: MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 2004, 5, 150-163.
10. Minta Z., Śmietanka K., Domańska-Blicharz K., Tomczyk G., Wijaszka T.: Wysoce zjadliwa grypa ptaków H5N1 u dzikich ptaków w Polsce – analiza pierwszych przypadków. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 1349-1352.
11. Payungporn S., Chutinimitkul S., Chaisingh A., Damrongwattanapokin S., Buranathai C., Amonsin A., Theamboonlers A., Poovorawan Y.: Single step multiplex real-time RT-PCR for H5N1 influenza A virus detection. *J. Microbiol. Methods* 2006, 131, 143-147.
12. Slomka M. J., Coward V. J., Banks J., Löndt B. Z., Brown I. H., Voermans J., Koch G., Handberg K. J., Jørgensen P. H., Cherbonnel-Pansart M., Jestin V., Cattoli G., Capua I., Ejdersund A., Thorén P., Czifra G.: Identification of sensitive and specific avian influenza polymerase chain reaction methods through blind ring trials organized in the European Union. *Avian Dis.* 2007a, 51, 227-234.
13. Slomka M. J., Pavlidis T., Banks J., Shell W., McNally A., Essen S., Brown I. H.: Validated H5 Eurasian real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction and its application in H5N1 outbreaks in 2005-2006. *Avian Dis.* 2007b, 51, 373-377.
14. Spackman E., Senne D. A., Myers T. J., Bulaga L. L., Garber L. P., Perdue M. L., Lohman K., Daum L. T., Suarez D. L.: Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 2002, 40, 3256-3260.
15. Swayne D. E.: Changing face of avian influenza ecology and its control: from wild birds to poultry and back again. *Proceedings of the 15<sup>th</sup> World Veterinary Poultry Congress, Beijing, China* 2007, s. 98-104.
16. Webster R. G., Hulse-Post D. J., Sturm-Ramirez K. M., Guan Y., Peiris M., Smith G., Chen H.: Changing epidemiology and ecology of highly pathogenic avian H5N1 influenza viruses. *Avian Dis.* 2007, 50, 269-272.
17. 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 haemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology* 1999, 261, 15-19.

Adres autora: dr Krzysztof Śmietanka, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy; e-mail: ksmiet@piwet.pulawy.pl