

МРНТИ: 34.25.29; 34.25.39

А.И. КЫДЫРМАНОВ^{1*}, К.О. КАРАМЕНДИН¹, Т.Б. САБЫРЖАН¹, С. ГУДМАН²¹ Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан;² Институт общей и сравнительной биологии, Университет Лидса, Лидс, Великобритания;

*e-mail: kydyrmanov@yandex.kz

ВИРУСЫ ГРИППА У МОРСКИХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**doi:10.53729/MV-AS.2022.03.02****Аннотация**

В обзоре обсуждается роль морских млекопитающих в эволюции, экологии и циркуляции вирусов гриппа А и В, свиного вируса пандемического гриппа А (H1N1) и высокопатогенных вариантов вируса гриппа птиц H5N1 и H5N8. Подчеркивается положение о том, что морские ластоногие могут служить одним из резервуаров широкого спектра вирусов, в частности гриппа В человека. Отмечено, что характер и интенсивность связывания вирусов гриппа различного происхождения с клетками эпителия респираторных органов морских млекопитающих – определяющий фактор их восприимчивости к инфекции, а также её продуктивности и особенностей патогенеза. Также выдвигается заключение о необходимости проведения комплексного эколого-вирусологического мониторинга вирусов гриппа, циркулирующих в популяциях тюленей в казахстанской акватории Каспийского моря.

Ключевые слова: вирус гриппа, эпизоотия, серология, ластоногие, морские млекопитающие, каспийский тюлень.

Отслеживание состояния популяций морских млекопитающих – одно из важных научных направлений в экологии. Наиболее значимыми остаются исследования животных, имеющих частые и длительные контакты с человеком. Согласно данным NOAA's National Marine Fisheries Service [1], в период с 1991 по 2007 гг. причиной гибели морских млекопитающих явились: инфекционные заболевания (15%), биотоксины (29%), экологические факторы (7%), человеческие воздействия (5%) и другие неизвестные факторы (44%).

В условиях отсутствия очевидных стрессовых воздействий существенное влияние на численность популяции морских млекопитающих оказывают возбудители инфекционных болезней (вирусы, бактерии), а также паразиты, относящиеся практически ко всем известным семействам.

Вирусные заболевания играют важную роль в динамике численности популяций диких животных, ограничивая их прирост и усиливая селекцию на генетическом уровне. Воздействие вирусов становится еще более существенным для популяций, находящихся под угрозой исчезновения или фрагментированных в результате деятельности человека. Прямое влияние на численность животных оказывают вирусы гриппа и морбилливирусы.

Вирус гриппа способен периодически преодолевать межвидовой барьер в результате мутации в одном из генов, повышающей изменчивость возбудителя. В результате возникает значительно большее количество его вариантов, что создаёт лучшие условия для адаптации в организме различных видов млекопитающих и птиц [2, 3].

Вопросы циркуляции и взаимосвязи возбудителей гриппа у различных видов хозяев, включая преодоление межвидового барьера, – основополагающее направление научного поиска, необходимого для понимания механизмов возникновения массовой инфекции человека и животных.

Распространение вируса гриппа А (ВГ А) среди морских млекопитающих связано с экологией этих животных и тесным контактом с птичьим резервуаром возбудителя.

В предлагаемом обзоре приводятся сведения об эпизоотиях среди морских млекопитающих, обусловленных вирусами гриппа родов А и В, обсуждается роль этих животных в экологии и в эволюции возбудителей.

Вирус гриппа А у морских млекопитающих

ВГ А изолированы от широкого круга хозяев, включая 105 видов диких и домашних птиц, различные виды млекопитающих (человек, свинья, лошадь, морские млекопитающие, норка, кошка и др.) [4]. Дикие птицы, относящиеся к отрядам *Anseriformes* (утки, гуси, лебеди) и *Charadriiformes* (прибрежные виды вместе с чайками), образуют естественный резервуар ВГ А в природе, из которого может происходить трансмиссия к другим хозяевам.

Первая информация о возможности инфицирования тюленей ВГ А получена во время тяжелой эпизоотии на побережье Новой Англии, в период с декабря 1979 по октябрь 1980 гг. В результате погибло около 600 млекопитающих, от одного из них выделен ВГ А /тюлень/Массачусетс/1/80 (H7N7) [5]. Генетическая характеристика вируса показала, что все участки РНК вируса имеют близкое сходство с таковыми у птичьих штаммов. Вторая эпизоотия среди тюленей, протекавшая с выраженными клиническими проявлениями пневмонии, возникла на побережье Новой Англии в июне 1982-августе 1983 гг. и была ассоциирована с ВГ А (H4N5) [6].

По сообщению J.R. Geraci и соавторов [4] инфекция среди тюленей протекала тяжело: у упитанных животных наблюдались конъюнктивиты, пенисто-кровянистые истечения из ноздрей, слабость, мышечная дрожь, нарушение координации движения и дыхания. У больных животных отмечалось опухание шеи в результате проникновения воздуха в фасции и мышцы из дыхательных путей. Животные теряли способность к плаванию или нырянию, что приводило к вынужденному их дрейфу по морскому течению или направлению ветра. У павших тюленей наблюдалась пневмония, которая характеризовалась некротизированными бронхитами, бронхиолитами и геморрагическими альвеолитами.

Со времени описания данных эпизоотий систематического обследования тюленей на ВГ А на побережье Новой Англии не проводилось. С января 1991 по февраль 1992 г. от млекопитающих, погибших от пневмонии на п-ове Кейп-Код (штат Массачусетс), выделены пять штаммов ВГ А, два из которых идентифицированы как А (H4N6), три – А (H3N3). Гены гемагглютинаина (НА) Н3 изолятов А/тюлень/Массачусетс/3911/92 и А/тюлень/Массачусетс/3984/92 оказались на 99,7% идентичными между собой. Филогенетический анализ показал тесную связь их последовательностей с таковыми НА Н3 птичьего вируса А/кряква/Нью-Йорк/6874/7, что указывает на длительную циркуляцию ВГ этого подтипа в популяциях тюленей [7].

К. Ohishi с соавторами [8] при исследовании сывороток крови каспийских тюленей, собранных в 1993-2000 гг., показали, что млекопитающие были инфицированы эпидемическими А/Бангкок/1/79-подобными вирусами гриппа, циркулировавшими среди людей в 1979-1981 гг. Антитела к вирусу Н3N2 также обнаружены в сыворотках крови байкальских – *Phoca sibirica* и кольчатых нерп – *Phoca hispida* Карского моря [9]. При серологическом исследовании сывороток крови курильского подвида обыкновенных тюленей (*Phoca vitulina stejnegeri*) на о-ве Хоккайдо выявлены антигемагглютинины к вирусам гриппа с подтипами НА Н3 и Н6, что указывает на способность последнего варианта инфицировать млекопитающих [10]. Получены так же косвенные серологические доказательства циркуляции ВГ А в популяциях морских млекопитающих (кольчатые нерпы, белухи – *Delphinapterus leucas*) в Баренцевом море (гренландские тюлени – *Phoca groenlandica* и хохлачи – *Cystophora cristata*) Арктической Канады, Северного и Берингового морей (тюлени и котики) [11-12]. De Boer с соавторами [13] выявили наличие антител к вирусам с подтипами гемагглютининов: Н1, Н3, Н4, Н7, и Н12 в сыворотках тюленей, отловленных в Беринговом море. В то же время, сыворотки крови

сивучей (*Eumetopias jubatus*), положительные на грипп А в ИФА, оказались отрицательными в РТГА (реакция торможения гемагглютинации), что позволило авторам предположить возможное присутствие в сыворотках этих животных антител к ранее неизвестным подтипам гемагглютининов ВГ А. В 2008 г. P. Calle с соавторами [14] не обнаружили антитела к ВГ в сыворотках морского зайца (*Erignathus barbatus*) на побережье Аляски, но установили их наличие к гемагглютину H10 и нейраминидазам N2, N3, N5, N7 в 21% из 38 исследованных сывороток крови моржей (*Odobenus rosmarus*) [15]. При мониторинге зоонозов морских позвоночных в прибрежных водах Северо-западной Атлантики от гренландского тюленя был изолирован ВГ А (H3N8) [16].

ВГ А (H1N3) изолирован Д.К. Львовым с соавт. [17] от гладкого кита (карликовый полосатик – *Balaenoptera acutorostrata*) в южной части Тихого океана в 1975-1976 гг. От зубатых китов (обыкновенная гринда – *Globicephala melas*) V. Hinshaw et al. [18] выделили ВГ H13N9 и H13N2 в генетическом отношении близкие к вирусам H13, циркулировавшим среди чайковых птиц. Неизвестно, вызвали ли эти вирусы болезнь у китов, или же простую оппортунистическую инфекцию. Доказательств, указывающих на то, что вирусы с этим подтипом НА передавались от одного животного к другому не получено. В результате сравнения их полных геномов с нуклеотидными последовательностями ВГ H13 околотовных птиц и вирусов гриппа морских млекопитающих обнаружена редкая констелляция генотипов, полученных от чаек, крачек и куликов [19]. Как показывают филогенетические исследования, изолированные от морских млекопитающих вирусы гриппа происходят от предшественников адаптированных к гусеобразным. В связи этим авторы считают, что штамм А/кит/Майн/328В/1984 – это единственный ВГ чайкового происхождения вызвавший инфекцию у морских млекопитающих.

В 2010 г. при вирусологическом мониторинге северных морских слонов (*Mirounga angustirostris*) у калифорнийского побережья были выявлены особи, инфицированные ВГ А. Носовые смывы двух взрослых самок из 42 исследованных животных, оказались положительными на М-ген ВГ А в полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) в режиме реального времени [20]. В последующем вирусы были выделены на развивающихся куриных эмбрионах, секвенирован их полный геном, в реакции торможения гемагглютинирующей активности установлена принадлежность изолятов к ВГ А (H1N1). В результате секвенирования генома вируса гриппа, выделенного от северного морского слона, показана более чем 99% гомология его с прототипным вирусом пандемического «свиного» гриппа А/California/04/2009 (H1N1), который циркулирует среди людей с 2009 г.

Циркуляция ВГ А (H1N1) среди морских слонов косвенно подтверждена при анализе более 300 сывороток крови этих животных. Установлено, что в образцах, собранных до апреля 2010 г., отсутствовали антитела к вирусу H1N1, серопозитивные особи стали обнаруживаться только после появления в циркуляции пандемического вируса «свиного» гриппа [21]. По характеру репликации вируса А/Elephant seal/California/1/2010 (H1N1) в эпителиальных клетках респираторных путей человека было высказано предположение об их адаптации к морским слонам. Вовлечение морских млекопитающих в циркуляцию пандемического вируса H1N1 свидетельствует о межвидовой трансмиссии эпидемических вариантов от людей обратно к диким животным.

Осенью 2011 г. в Новой Англии (штат Массачусетс, США) 162 тюленя погибли от пневмонии, вызванной ВГ H3N8, сходным с вирусами водоплавающих птиц, циркулировавшими в Северной Америке с 2002 г. Вирус обладал мутацией в PB2 гене, характерной высокопатогенному для людей варианту H5N1, что указывает на его способность к межвидовой передаче и адаптации к млекопитающим [21].

Имеется ряд сообщений о вирусологическом мониторинге циркуляции ВГ А в популяциях морских млекопитающих Северной Евразии. Так, в период с 1976 по 1999 гг. С.С. Ямникова с соавт. [22] в ходе мониторинга за циркуляцией ВГ А в популяциях диких птиц Северного Каспия исследовали образцы от 152 особей каспийского тюленя (*Phoca*

casifica), но им не удавалось обнаружить инфицированных животных. Позже, исследования сывороток крови каспийских тюленей, собранных в 1993–2000 гг., показали, что млекопитающие были инфицированы эпидемическими А/Бангкок/1/79-подобными вирусами, циркулировавшими среди людей в 1979–1981 гг. [23].

Позднее А.М. Шестопалов с соавт. [24,25] и З.К. Чувакова с соавт. [26,27] сообщили об изоляции ВГ А (H7N7), из материалов, собранных от павших каспийских тюленей во время их массовой гибели в апреле–июне 2000–2002 гг. Однако в литературе нет каких-либо данных о филогенетических или патобиологических свойствах эпизоотического ВГ А (H7N7).

В 2002 и 2012 гг. ВГ А (H4N6) были выделены от каспийских тюленей в российских водах [28]. Этот тюлений изолят был тесно связан с вирусами птичьего гриппа классической евразийской линии.

В 2002–2010 гг. А.М. Шестопалов с соавт. [29] провели серологические исследования сывороток крови от 298 китообразных (афалины - *Tursiops truncatus* и белухи) Черного и Охотского морей на наличие антител к ВГ в РТГА с использованием в качестве антигенов вирусов (H1, H3, H4, H7 и H13), которые ранее выделяли или диагностировали у морских млекопитающих. Антитела к указанным подтипам ВГ ни у одного из исследуемых животных не были обнаружены.

Т. Harkonen с соавторами [30] в 2007 г. исследовали эпизоотию среди тюленей на датском о-ве. Анхольт и вдоль побережья Швеции, где погибли несколько тысяч животных. У пораженных особей наблюдали слабость, опухание, эмфизематозность шеи, одышку, кровохарканье. При вскрытии павших тюленей обнаружена интерстициальная пневмония, некротический трахеит и бронхит. В этих же регионах, отмечен выброс туш морских свиней с эмфизематозными проявлениями. Исходя из отрицательных результатов бактериологических исследований материалов от павших особей и ПЦР анализа, авторы [29] считают, что этиологическим агентом инфекции тюленей и морских свиней мог быть другой вирусный патоген. V.C. White [31] обсуждая вопрос о возможном участии ВГ в эпизоотии 2007 г. среди ластоногих и китообразных в Скандинавии, предполагает, что эта редкая вспышка могло произойти в результате интродукции нового варианта вируса в популяцию одного из этих видов животных с последующей межвидовой трансмиссией.

Эпизоотии у морских млекопитающих, вызванные ВГ А в других частях света, впервые зарегистрированы в 2014 г. ВГ А (H10N7) изолирован от павших обыкновенных тюленей (*Ph. vitulina*) на побережье Северного моря в Швеции, Дании, Германии и Нидерландах [32–33], где погибло свыше 1400 животных.

В Великобритании были зарегистрированы спорадические случаи выявления ВГ у тюленей, включая подтипы А (H3N8), выделенные от молодых *Halichoerus grypus* в Корнуолле в 2017 г. [34], и А (H5N8) от серых тюленей и двух *Phoca vitulina* в Норфолке в 2020 г. [35]. Из-за отсутствия рутинного эпиднадзора за популяциями морских млекопитающих в Соединенном Королевстве невозможно определить, случайный ли ВГ птиц у этих видов, либо он проявляет эндемичность в популяции британских тюленей [36].

Высокопатогенный ВГ А (H5N8) был обнаружен в образцах легких двух *Halichoerus grypus*, выброшенных на берег Балтийского побережья Польши в 2016 и 2017 гг. Изолированный вирус был отнесен к кладе 2.3.4.4 В, которая тесно связана с птичьим вариантом H5N8, циркулировавшим в то время в Европе [37].

В июле 2022 г. в Службе инспекции здоровья животных и растений Министерства сельского хозяйства США подтвердили, что образцы четырех тюленей, выброшенных на берег в штате Мэн, дали положительный результат на высокопатогенный грипп птиц А (H5N1) [38]. Выявление ВГ птиц подтипов H5N1, H5N8 у тюленей свидетельствует о постоянном риске возникновения эпизоотии среди тюленей, сталкивающихся с высокопатогенными вариантами возбудителей гриппозной инфекции птичьего

происхождения на пересечении пролетных путей, сезонных миграций ластоногих и человеческой деятельности.

В обзорной статье V.C. White [31] обобщены данные по круговороту ВГ в цепи питания обитателей водной среды. Основным фактором передачи вирусов гриппа, где они остаются жизнеспособными в течение нескольких месяцев, считается вода. Вирусы длительное время сохраняются во льдах водоемов, а также концентрируются в организме у фильтрующих беспозвоночных [39,40]. Рыбы могут питаться донными отложениями, пометом птиц и детритами, содержащими в большом количестве вирусы гриппа. В свою очередь, контаминированные ВГ рыбы и беспозвоночные становятся кормом для рыбоядных птиц и тюленей [41]. При алиментарном пути заражения вирусы, поступившие в желудочно-кишечный тракт плотоядных животных, могут проникнуть в печень через портальную вену [34,42].

ВГ имеет только одну группу специфических рецепторов на клеточной поверхности. Их структура зависит от видового и тканевого происхождения клеток, которые определяют возможности межвидовой трансмиссии возбудителей гриппа [43]. Различные подтипы НА отличаются по способности распознавания и связывания сиаловой кислоты. НА ВГ человека соединяется с остатками сиаловой кислоты в положении 2'-6' связи, а НА птичьих вирусов 2'-3' связи. Рецепторная специфичность НА ВГ А, изолированных от морских млекопитающих, коррелирует с сиалоолигосахаридами SA α 2,3Gal, обнаруженными в эпителиях легких тюленей и китов [44]. Это указывает на возможность прямой передачи ВГ птиц к морским млекопитающим вышеуказанных отрядов. В отличие от птиц, у тюленей сиалоолигосахаридные рецепторы SA α 2,3Gal расположены в легких, а не кишечном тракте, что делает их более восприимчивыми к воздушно-капельному пути заражения. [37,45].

Изучение характера и интенсивности связывания ВГ различных хозяев с клетками эпителия респираторных органов морских млекопитающих – определяющий фактор их восприимчивости к инфекции, а так же ее продуктивности и особенностей патогенеза. При гистохимическом анализе A.J. Ramis с соавторами [38] установили, что изоляты ВГ водоплавающих птиц, сходные с эпизоотическими штаммами ластоногих (H4N5, H7N7), умеренно связываются с эпителиальными рецепторами трахеи и бронхов *Phoca vitulina* и *Halichoerus grypus*, а так же частично взаимодействуют с таковыми китообразных (морская свинья, афалина). В то же время клетки эпителия альвеол всех четырех видов животных проявляли к ним только частичную аффинность. На основании вышеизложенных данных, высказывается предположение о возможности инфицирования тюленей широким спектром ВГ птиц путем прямой трансмиссии без предварительной адаптации.

В вышеуказанной работе [38] показано, что взятые в эксперимент вирусы пандемического («свиной» грипп H1N1pdm) и сезонного (H3N2) гриппа человека слабо связывались с клетками трахеобронхиального эпителия китообразных и не прикреплялись к таковым у тюленей. По их мнению, это обстоятельство служит доказательством отсутствия случаев вспышек гриппозных инфекций среди тюленей, вызванных вирусами человека. Тем не менее, в литературе имеются сведения об инфицированности свободноживущих калифорнийских морских пандемическим «свиным» гриппом [21], и серологические данные об инфицированности каспийских тюленей А/Бангкок/1/79 (H3N2)-подобными эпидемическими вирусами [8].

Обнаружение ВГ А некоторых подтипов в популяциях тюленей и других морских млекопитающих свидетельствует о том, что эти животные могут участвовать в процессах генетической реассортации между ВГ различного происхождения, но они не играют существенной роли в экологии и эволюции возбудителя.

Вирус гриппа В у тюленей

До 1999 г. ВГ В считался исключительно человеческим патогеном. Однако, относительно недавно было доказано, что обыкновенные и серые тюлени могут инфицироваться этим вирусом [46]. ВГ В, заражающий культуру клеток *in vitro* почек тюленя, выделен от молодняка обыкновенного тюленя с признаками респираторного заболевания. С момента установления морских млекопитающих в качестве новых хозяев появились несколько сообщений по обнаружению антител к ВГ В у некоторых видов ушастых и настоящих тюленей. На основании этих данных было выдвинуто предположение, что тюлени могут служить одним из резервуаров вируса гриппа В человека [7, 47].

С целью определения возможности циркуляции ВГ В среди тюленей исследовательская группа из Медицинского Центра Эразмус (Роттердам, Нидерланды) проанализировала 615 образцов сывороток крови ластоногих (548 от обыкновенных тюленей и 67 от серых тюленей), собранных на побережье Нидерландов, и поступивших в центр реабилитации тюленей в Питербюрене в 2002–2012 гг. В результате в образцах, собранных от тюленей в 2002 – 2009 гг. и после 2011 г., специфические антитела к ВГ В не выявлены. Однако в десяти сыворотках, из 170 собранных в 2010-2011 гг., в РТГА в высоких титрах обнаружены антитела к штамму B/Yamanashi/166/98. В этих же сыворотках в низких титрах выявлены антигемагглютинины к прототипному вирусу B/Seal/Netherlands/1/99, выделенному от тюленя в нидерландских прибрежных водах [48]. Авторы считают, что тюлени инфицировались вирусом сходным с B/Yamanashi/166/98, который в антигенном отношении отличается от B/Seal/Netherlands/1/99. Следует отметить, что в 79 сыворотках крови морских свиней, собранных в 2003 - 2013 гг. в тех же водах Нидерландов, что и серопозитивные сыворотки от тюленей, антитела к ВГ В не обнаружены [49].

В наших исследованиях инфицирование каспийских тюленей ВГ В подтверждается серологическими методами. Наивысшие титры антител выявлены против штамма гриппа В/Алматы/8/18, относящегося к вирусам линии B/Victoria, несколько более низкие титры антител выявлены к штамму B/Florida/4/2006 линии B/Yamagata. Антитела в высоких титрах были обнаружены в образцах сыворотки молодых тюленей, что свидетельствует о недавнем заражении этих животных гриппом В.

Проведенный анализ данных литературы свидетельствует об инфицированности морских млекопитающих различными подтипами вирусов гриппа А. К настоящему времени от ластоногих изолированы ВГ А с антигенными формулами H1N1, H3N3, H3N8, H4N5, H4N6, H5N1, H5N8, H7N7, H10N7, от китообразных – H1N3, H13N2, H13N9. В единичных исследованиях показана возможность циркуляции среди каспийских тюленей ВГ А (H3N2), А (H4N6) и В.

В связи с этим, важным представляется проведение комплексного эколого-вирусологического мониторинга вирусов гриппа, циркулирующих среди каспийских тюленей, являющихся одним из возможных резервуаров в природе, где может произойти реассортация генов ВГ птиц с появлением новых вариантов возбудителей, адаптированных к млекопитающим животным и человеку.

Источник финансирования

Исследование финансируется Комитетом науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (грант № AP08856073 «Исследование вирусной метапопуляций каспийского тюленя для раннего обнаружения возбудителей новых и возвращающихся инфекций»).

Литература:

1 <http://www.nmfs.noaa.gov/pr/health>

- 2 Furió V1, Moya A, Sanjuán R. The cost of replication fidelity in an RNA virus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, Jul 19; 102(29), 10233-7. PMID:16006529
- 3 Steinhauer DA, Domingo E, Holland JJ. Lack of evidence for proofreading mechanisms associated with an RNA virus polymerase. *Gene*, 1992, Dec 15, 122(2), P.281-288. PMID:1336756
- 3 Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus AD, Fouchier R. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science*, 2006, 312, 384-388. PMID:17500589
- 4 Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus AD, Fouchier R. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science*, 2006, 312, 384-388. PMID:17500589
- 5 Geraci J.R, St Aubin D.J, Barker I.K, et al. Mass mortality of harbor seals: pneumonia associated with influenza A virus. *Science*, 1982, 215, 1129-1131. PMID:7063847
- 6 Hinshaw V. S., Bean W. J., Webster R. G. et al. Are seals frequently infected with avian influenza viruses. *J. Virol*, 1984, 51, 863-865. PMID:3701925
- 7 Callan R.G., Early C., Rida H., Hinshaw V.S. The appearance of H3 influenza viruses in seals. *J. Gen. Virol*, 1995, 76 (Part 1), P. 199-203. PMID:7844533
- 8 Ohishi K., Ninomiya A., Kida H. et al. Serological evidence of transmission of human influenza A and B viruses to Caspian seals (*Phoca caspica*). *Microbiol Immunol*, 2002, 46(9), P. 639-44. PMID:12437032
- 9 Ohishi K, Kishida N, Ninomiya A, et al. Antibodies to human-related H3 influenza A virus in baikal seals (*Phoca sibirica*) and ringed seals (*Phoca hispida*) in Russia. *Microbiol Immunol*, 2004, 48(II), 905-909. PMID:15557750
- 10 Fuji K., Kakumoto Ch., Kobayashi M. et al. Serological evidence of Influenza A virus infection in Kuril harbour seals (*Phoca vitulina stejnegeri*) of Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med Sci*, 2007. Aug., 69 (3), 259-263. PMID:17409641
- 11 Nielsen O., Clavijo A., Boughen J.A. Serologic Evidence of Influenza A Infection in Marine Mammals of Arctic Canada, *J Wildl Dis.*, 2001, 37(4), 820–825. PMID:11763748
- 12 Козырева М.В., Соколова О.В., Юров Г.К., Алексеенкова С.В. Бурканов В.Н., Юров К.П. Выявление специфических антител к ряду вирусов млекопитающих у сивуча (*Eumetopias jubatus*) Курильских островов. В сб.: Морские млекопитающие Голарктики: сборник научных трудов по материалам V международной конференции, Одесса, 2008, –628 с.
- 13 De Boer GF, Back W, Osterhaus ADME. An ELISA for detection of antibodies against influenza A nucleoprotein in humans and various animal species. *Arch Virol*, 1990, Vol.115, 47-61. PMID:2174233
- 14 Calle PP, Seagars DJ, McClave C, Senne D, House C, House JA. Viral and bacterial serology of six free-ranging bearded seals *Erignathus barbatus*. *Dis Aquat Organ*, 2008, 81, 77-80. PMID:18828565.
- 15 Calle PP, Seagars DJ, McClave C, Senne D., House C., House J.A. Viral and bacterial serology of free-ranging Pacific walrus. *J Wildl Dis.*, 2002, 38, 93-100. PMID:11838234.
- 16 Bogomolni AL, Gast RJ, Ellis JC, Dennett M, Pugliares KR, Lentell BJ, Moore MJ. Victims or vectors: a survey of marine vertebrate zoonoses from coastal waters of the Northwest Atlantic. *Dis Aquat Organ*, 2008 Aug 19;81(1), 13-38. doi: 10.3354/dao01936. PMID:18828560
- 17 Lvov D.K., Zhdanov V.M., Sazonov A.A. et al. Comparison of influenza viruses isolated from man and from whales. *Bull. WHO*, 1978, 56, 923-930. PMID:310734
- 18 Hinshaw V.S., Bean W.J., Geraci J.R. Characterization of two influenza A viruses from a pilot whale. *J Virol*, 1986, 58, 655-656. PMID:3701925
- 19 Groth M., Lange J., Kanrai P., Pleschka S., Scholtissek C., Krumbholz A., Platzer M., Sauerbrei A., Zell R.. The genome of an influenza virus from a pilot whale: Relation to influenza viruses of gulls and marine mammals. *Infect Genet Evol*, 2014, 24, 183-186. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.026.
- 20 Goldstein T., Mena I., Anthony SJ. et al. Pandemic H1N1 Influenza Isolated from Free-Ranging Northern Elephant Seals in 2010 off the Central California Coast. *PLoS ONE*, 2013, 8(5): e62259. doi:10.1371/journal.pone.0062259
- 21 Anthony S.J, et al. Emergence of fatal avian influenza in New England harbor seals. *mBio*, 2012, № 3(4):e00166-12. doi:10.1128/mBio.00166-12.
- 22 Ямникова С.С., Гамбарян А.С., Федякина И.Т. и др. Мониторинг за циркуляцией вирусов гриппа А в популяциях диких птиц Северного Каспия. *Вопр. Вирусол*, 2001, 4, 39-43.
- 23 Ohishi K., Ninomiya A., Kida H., Park C., Maruyama T., Arai T., Katsumata E., Tobayama T., Boltunov A., Khuraskin L., Miyazaki N. Serological evidence of transmission of human influenza A and

- В viruses to Caspian seals (*Phoca caspica*). *Microbiology and Immunology*, 2002, 46(9), 639-44. PMID:12437032.
- 24 Шестопалов А.М., Беклемишев А.Б., Хураськин Л.С. и др. Пара- и ортомиксовирусы у каспийских тюленей. В сб.: Морские млекопитающие Голарктики: сборник научных трудов по материалам II международной конференции, Москва: КМК, 2002, 294.
- 25 Дурыманова А.А., Беликов С.И., Золотых С.И. и др. Мониторинг инфекционных заболеваний каспийских тюленей (*Phoca caspica*). В сб.: Морские млекопитающие Голарктики: сборник научных трудов по материалам III международной конференции, Москва, КМК, 2004. - 609.
- 26 Чувакова З.К., Икранбегийн Р., Глебова Т.И. и др. Грипп у тюленей: Обзор информации и результаты экспедиций на Северный Каспий в связи массовой гибелью тюленей в 2000 г., Изв. НАН РК. Сер. биол. и мед., 2001, 3. 47-54
- 27 Бекмагамбетова А.Ж., Икранбегийн Р., Глебова Т.И. Иммуноферментная диагностика бинарной миксовирусной инфекции во время массовой гибели тюленей на Северном Каспии летом 2000 г. В сб.: 1 Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, посвященная 10-летию независимости Республики Казахстан «Актуальные вопросы современной биологии и биотехнологии», Алматы, 2001, 159-161.
- 28 Gulyaeva M., Sobolev I., Sharshov K., Kurskaya O., Alekseev A., Shestopalova L., Kovner A., Bi Y., Shi W., Shchelkanov M., Shestopalov A. Characterization of Avian-like Influenza A (H4N6) Virus Isolated from Caspian Seal in 2012. *Virologica Sinica*, 2018, 33(5), 449-452. doi: 10.1007/s12250-018-0053-y. Epub 2018 Oct 17.
- 29 Шестопалов А.М., Алексеев А.Ю. Розанова Е.И., Абрамов А.В. Вирусы гриппа у морских млекопитающих. В сб.: Морские млекопитающие Голарктики: сборник научных трудов по материалам VII международной, Калининград: Капрос, 2010, 654.
- 30 Harkonen T, Backlin BM, Barrett T, et al. Mass mortality in harbor seals and harbor porpoises caused by an unknown pathogen. *VetRec.*, 2008, 162, 555-556. PMID: 18441352
- 31 White V.C. A Review of Influenza Viruses in Seals and the Implications for Public Health, *US Army Med Dep J.*, 2013, Jan-Mar, 45-50. PMID:23277445
- 32 Zohari S, Neimanis A, Härkönen T, Moraeus C, Valarcher JF. Avian influenza A(H10N7) virus involvement in mass mortality of harbour seals (*Phoca vitulina*) in Sweden, March through October 2014. *Euro Surveill*, 2014;19(46):pii=20967.
- 33 Krog JS, M Hansen MS, Holm E, Hjulsgaard CK, Chriél M, Pedersen K, Andresen LO, Abildstrøm M, Jensen TH, Larsen LE. Influenza A(H10N7) virus in dead harbor seals Denmark. *Emerg Infect Dis.*, 2015, 21(4), 684-7. doi: 10.3201/eid2104.141484.
- 34 Venkatesh D, Bianco C, Núñez A, Collins R, Thorpe D, Reid SM, Brookes SM, Essen S, McGinn N, Seekings J, Cooper J, Brown IH, Lewis NS. Detection of H3N8 influenza A virus with multiple mammalian-adaptive mutations in a rescued Grey seal (*Halichoerus grypus*) pup. *Virus Evol.*, 2020, 18;6(1), 016. doi: 10.1093/ve/veaa016.
- 35 Floyd T, Banyard AC, Lean FZX, Byrne AMP, Fullick E, Whittard E, Mollett BC, Bexton S, Swinson V, Macrelli M, Lewis NS, Reid SM, Núñez A, Duff JP, Hansen R and Brown IH. 2021. Systemic infection with highly pathogenic H5N8 of avian origin produces encephalitis and mortality in wild mammals at a UK rehabilitation centre. *bioRxiv*, 2021.2005.2026.445666. 10.1101/2021.05.26.445666
- 36 UK Health Security Agency. Influenza of avian origin in UK seal populations: qualitative assessment of the risk to the UK human population. Published 19 July 2022 <https://www.gov.uk/government/publications/avian-influenza-in-uk-seal-populations-hairs-risk-assessment/influenza-of-avian-origin-in-uk-seal-populations-qualitative-assessment-of-the-risk-to-the-uk-human-population#ENREF9>
- 37 Shin DL, Siebert U, Lakemeyer J, Grilo M, Pawliczka I, Wu NH, Valentin-Weigand P, Haas L, Herrler G. Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N8) Virus in Gray Seals, Baltic Sea. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25(12), 2295-2298. doi: 10.3201/eid2512.181472.
- 38 NOAA Fisheries. Recent Increase in Seal Deaths in Maine Linked to Avian Flu 2022
- 39 Smith AW, Skilling DE, Castello JD, Rogers SO. Ice as a reservoir for pathogenic human viruses: specifically, caliciviruses, influenza viruses, and enteroviruses. *Med Hypotheses*, 2004, 63, 560-566. PMID: 15324997

- 40 Faust C, Stallknecht D, Swayne D, Brown J. Filter-feeding bivalves can remove avian influenza viruses from water and reduce infectivity. *Proc Biol Sci.*, 2009, 276, 3727-3735. PMID: 19656788
- 41 Reperant L.A, Rimmelzwaan G.F., Kuiken T. Avian influenza viruses in mammals. *Rev Sci* 2009, 28 (1), 137-159. PMID:19618623
- 42 Thanawongnuwech R, Amonsin A, Tantilertcharoen R, et al. Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. *Emerging Infectious Diseases*, 11 (5), 699. PMID:15890122
- 43 Matrosovich, M., N. Zhou, Y. Kawaoka, R. Webster. 1999. The surface glycoproteins of H5 influenza viruses isolated from humans, chickens, and wild aquatic birds have distinguishable properties. *J. Virol.*, 1999, 73(2), 1146-1155. PMID:9882316
- 44 Ito T., Kawaoka Y., Noruma A., Otsuki K. Receptor specificity of influenza A viruses from sea mammals correlates with lung sialyloligosaccharides in these animals. *J. Vet. Med Sci.*- 1999, Aug. 61(8), 955-958. PMID:10487239
- 45 Ramis A.J., Debby van Riel, Marco W.G van de Bildt, Osterhaus A., Kuiken T. Influenza A and B Virus Attachment to Respiratory Tract in Marine Mammals. *Emerging Infectious Diseases*. 2012, 18, No. 5, May. 817-820. PMID:22516350
- 46 Osterhaus A.D.M.E., Rimmelzwaan G.F., Martina, B.E.E. et al. Influenza B virus in seals. *Science*, 2000, 288, 1051-1053. PMID:10807575
- 47 Blanc A, Ruchansky D, Clara M, Achaval F, Le Bas A, Arbiza J. Serologic evidence of influenza A and B viruses in South American fur seals (*Arctocephalus australis*). *J Wildl Dis.*, 2009, 45, 519-21. PMID:19395764
- 48 Bodewes R., Morick D., de Mutsert Gerrie, Osinga N., Bestebroer T. et al. Recurring Influenza B Virus Infections in Seals. *Emerging Infectious Diseases*, 2013, 19, No. 3, 511-512. PMID:23750359.
- 49 Bodewes R, van de Bildt MW, van Elk CE. et al. No serological evidence that harbour porpoises are additional hosts of influenza B viruses. *PLoS One.*, 2014, Feb 13;9(2):e89058. doi: 10.1371/journal.pone.0089058. eCollection 2014. PMID:24551217.

А.И. ҚЫДЫРМАНОВ^{1*}, Қ.О. КАРАМЕНДИН¹, Т.Б. САБЫРЖАН¹, С. ГУДМАН²

¹ Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан;

² Жалпы және салыстырмалы биология институты, Лидс университеті, Лидс, Ұлыбритания;

*e-mail: kydyrmanov@yandex.kz

ТЕҢІЗ СҮТҚОРЕКТІЛЕРІНДЕГІ ТҰМАУ ВИРУСТАРЫ

Түйін

Шолулық мақалада теңіз сүтқоректілері арасында А және В тұмау вирустары туғызған індеттер жайында деректер келтірілген. Бұл жануарлардың тұмау қоздырғыштарының экологиясы мен эволюциясындағы рөлі талқыланады. Доңыз тұмауының А (H1N1) пандемиялық вирусының және құс тұмауының H5N1 және H5N8 зардапты нұсқаларының айналымына теңіз сүтқоректілерінің қатысу жағдайлары сипатталған. Тұмау вирустарының кең ауқымы итбалықтарға алдын-ала бейімделмей-ақ тікелей жұғу мүмкіндігі жайында пікір айтылған. Шығу тегі әртүрлі тұмау вирустарының теңіз сүтқоректілерінің респираторлық ағза эпителийі торшаларымен байланысу сипаты мен қарқыны жануарлардың инфекцияға бейімталдығының, ауру өршуі мен зардаптану ерекшеліктерінің шешуші факторы екендігі аталған. Сондай-ақ теңіз ескекаяқтылары В тұмауы вирусының табиғаттағы қоры деген тұжырым жасалған. Каспий теңізінің қазақстандық бөлігіндегі итбалықтар арасындағы тұмау вирустарының айналымына кешенді экологиялық-вирусологиялық мониторинг жүргізу қажеттілігі туралы ой қортылған.

Кілтті сөздер: тұмау вирусы, мониторинг, індет, серология, итбалық, ескекаяқтылар, киттәрізділер, теңіз сүтқоректілері, каспий итбалығы.

A.I. KYDYRMANOV^{1*}, K.O. KARAMENDIN¹, T.B. SABYRZHAN¹, S. GOODMAN²

¹ Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan;

² Institute of General and Comparative Biology, University of Leeds, Leeds, UK;

*e-mail: kydyrmanov@yandex.kz

INFLUENZA VIRUSES IN MARINE MAMMALS

doi:10.53729/MV-AS.2022.03.02

Abstract

The review presents information about epizootic infections among marine mammals induced by A and B influenza viruses. The role of these animals in the ecology and evolution of the pathogen is discussed. Cases of involvement of marine mammals in the circulation of swine pandemic influenza A (H1N1) virus and highly pathogenic variants of H5N1 and H5N8 avian influenza viruses are described. It is suggested that seals can be infected with a wide range of influenza viruses by direct transmission without prior adaptation. It was noted that the nature and intensity of binding of influenza viruses of various origins to the epithelial cells of the respiratory organs of marine mammals is a determining factor in their susceptibility to infection, as well as its productivity and pathogenesis features. The position that marine pinnipeds can serve as one of the reservoirs of human influenza B virus in nature is emphasized. It is concluded that conducting a comprehensive environmental and virological monitoring of influenza viruses circulating in seal populations in the Kazakhstan waters of the Caspian Sea is necessary.

Keywords: influenza virus, epizootics, serology, seal, pinnipeds, marine mammals, Caspian seal.

Monitoring the condition of marine mammal populations is one of the essential scientific directions in ecology. Of particular relevance are studies of animals with frequent and prolonged contact with humans. According to NOAA's National Marine Fisheries Service [1], during the period from 1991 to 2007, 15% of marine mammals died from infectious diseases, 29% - from poisoning by biotoxins, 7% - from ecological factors, 5% - from human impact and 44% - from other unknown factors.

In the absence of direct stressors, a significant impact on the number of marine mammals has infectious disease agents (viruses, bacteria) and parasites of almost all known families.

Viruses play a significant role in regulating the population dynamics of wildlife populations, limiting their increase and enhancing selection at the genetic level. The effects of viruses are even more important for populations endangered or fragmented by human activities. Influenza viruses and morbilliviruses have a direct impact on animal populations.

The influenza virus (IV) is periodically able to cross the interspecies barrier due to a mutation in one of the polymerase genes that increases the level of variability of the pathogen. As a result, a much larger number of its variants emerge, which creates better conditions for adaptation in the organisms of different species of animals and birds [2, 3].

The circulation and interrelationship of influenza pathogens in different host species, including overcoming the interspecies barrier, is a fundamental area of scientific inquiry necessary for understanding the mechanisms of mass infection in humans and animals.

The spread of influenza A viruses (IAV) among marine mammals is related to the ecology of these animals and close contact with the avian reservoir of the pathogen.

The proposed review provides information about epizootics among marine mammals caused by influenza A and B viruses. It discusses the role of these animals in the ecology and evolution of the pathogens.

Influenza A virus in marine mammals

IAV are isolated from a wide range of hosts, including 105 wild and domestic birds and various mammal species (human, pig, horse, marine mammals, mink, cat, etc.) [4]. Wild birds

belonging to the *Anseriformes* (ducks, geese, swans) and *Charadriiformes* (shorebirds, gulls) form a natural reservoir of IAV in nature, from which transmission to other hosts can occur.

The first information about the possibility of seals being infected with IAV was obtained during a severe epizootic on the New England coast between December 1979 and October 1980. As a result, about 600 mammals died, and the influenza A/seal/Massachusetts/1/80 (H7N7) virus was isolated from one of them [5]. Genetic characterisation of the virus showed that all its RNA segments closely resemble those of avian strains. The second epizootic among seals with pronounced clinical manifestations of pneumonia occurred on the coast of New England from June 1982-August 1983 and was associated with IAV (H4N5) [6].

J.R Geraci et al. [4] reported that the infection in seals was severe: in well body condition animals, there was conjunctivitis, frothy-bloody discharge from the nostrils, weakness, muscular tremors, impaired coordination of movement and breathing. Swelling of the neck as a result of air infiltration into the fasciae and muscles from the respiratory tract was noted in sick animals. Animals lost their ability to swim or dive, forcing them to drift along the sea current or wind direction. Died seals had pneumonia characterised by necrotising bronchitis, bronchiolitis, and hemorrhagic alveolitis.

No systematic examination of seals for IAV has been conducted on the New England coast since these epizootics were described. From January 1991 to February 1992, five strains of IAV was isolated from mammals that died of pneumonia on Cape Cod, Massachusetts, two of which were identified as A (H4N6) and three as A (H3N3). The hemagglutinin (HA) genes of H3 isolates of A/seal/Massachusetts/3911/92 and A/seal/Massachusetts/3984/92 were 99.7% identical. Phylogenetic analysis demonstrated a close association of their sequences with those of HA H3 of avian virus A/Mallard/New York/6874/7, indicating a long circulation of the IV of this subtype in seal populations [7].

K. Ohishi et al. [8], in a study of blood sera of Caspian seals collected in 1993-2000, showed that the mammals were infected with epidemic A/Bangkok/1/79-like IV circulating among humans in 1979-1981. Antibodies to the H3N2 virus were also found in the sera of Baikal (*Phoca sibirica*) and ringed seals (*Phoca hispida*) of the Kara Sea [9]. Serological study of the Kuril subspecies of harbour seals (*Phoca vitulina stejnegeri*) on Hokkaido Island revealed anti-HAs to IV with HA subtypes H3 and H6, which indicates the ability of the latter variant to infect mammals [10]. Indirect serological evidence of IAV circulation in populations of marine mammals (ringed seals, beluga whales - *Delphinapterus leucas*) of the Barents Sea (harp seals - *Phoca groenlandica* and hooded seals - *Cystophora cristata*) of Arctic Canada, Northern and Bering Seas (seals and fur seals) was also obtained [11-12]. De Boer et al. [13] detected the presence of antibodies to viruses with HA subtypes: H1, H3, H4, H7, and H12 in sera of seals caught in the Bering Sea. At the same time, sera of sea lions (*Eumetopias jubatus*) positive for IAV in NP-ELISA were negative in the hemagglutination inhibition test (HI), which allowed to assume the possible presence of antibodies to previously unknown subtypes of HAs of influenza A viruses in the sera of these animals. In 2008 P. Calle et al. [14] found no antibodies to the IV in the sera of the bearded seals (*Erignathus barbatus*) on the coast of Alaska. Still, they detected their presence against HA H10 and neuraminidases N2, N3, N5, and N7 in 21% of sera from 38 samples of walruses (*Odobenus rosmarus*) studied [15]. IAV (H3N8) was isolated from harp seals while monitoring marine vertebrates' zoonoses in the Northwest Atlantic's coastal waters [16].

IAV (H1N3) was isolated by D.K. Lvov et al. [17] from a minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) in the South Pacific in 1975-1976. From toothed whales (pilot whale - *Globicephala melas*), V. Hinshaw et al. [18] isolated IV H13N9 and H13N2 genetically similar to the H13 viruses circulating among gulls. It is unknown whether these viruses caused disease in the whales or common opportunistic infection. Evidence indicating that viruses with this HA subtype were transmitted from one animal to another has not been obtained. A comparison of their complete genomes with the nucleotide sequences of influenza H13 viruses from water birds and influenza viruses from marine mammals revealed a rare constellation of genotypes from

gulls, terns, and waders [19]. As phylogenetic studies show, IV isolated from marine mammals originated from precursors adapted to *Anseriformes*. In this regard, the authors believe that strain A/whale/Main/328B/1984 is the only gull influenza virus that causes infection in marine mammals.

In 2010, virological monitoring of northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*) on the coast of California revealed individuals infected with IAV. Nasal swabs of two adult females out of 42 animals were positive for the IAV M gene by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) [20]. Subsequently, the viruses were isolated from developing chicken embryos, their complete genome was sequenced, and the isolates were determined to be IAV (H1N1) by the hemagglutination inhibition test (HI). Genome sequencing of an influenza virus isolated from a northern elephant seal showed more than 99% homology with the pandemic swine influenza virus prototype A/California/04/2009 (H1N1), which had been circulating among humans since 2009.

The circulation of IAV (H1N1) among elephant seals was additionally confirmed by analysis of more than 300 sera of these animals. In samples collected before April 2010, there were no antibodies to the H1N1 virus; seropositive individuals were detected only after the appearance of the pandemic «swine» IV in circulation [21]. The nature of replication of the A/Elephant seal/California/1/2010 (H1N1) virus in human respiratory epithelial cells suggested their adaptation to marine elephants. The involvement of marine mammals in the circulation of the pandemic H1N1 virus suggests cross-species transmission of epidemic variants from humans back to wildlife.

In autumn 2011, 162 seals in New England (Massachusetts, USA) died of pneumonia caused by IV H3N8, similar to the waterfowl viruses circulating in North America since 2002. The virus had a mutation in the PB2 gene characteristic of the highly pathogenic human variant H5N1, indicating its ability to transmit interspecies and adapt to mammals [21].

There are several reports on virological monitoring of IAV circulation in marine mammal populations of coastal waters of Northern Eurasia. Therefore, between 1976 and 1999. S. Yamnikova et al. [22], while monitoring the circulation of IAV in wild bird populations of the Northern Caspian Sea, examined samples from 152 individuals of Caspian seal (*Pusa caspica*). Still, they were unable to find infected animals. Later, examination of blood sera of Caspian seals collected in 1993-2000 showed that the mammals were infected with epidemic A/Bangkok/1/79-like viruses circulating among humans in 1979-1981. [23].

Later, A. Shestopalov et al. [24,25] and Z. Chuvakova et al. [26, 27] reported the isolation of IAV (H7N7) from materials collected from affected Caspian seals during morbillivirus epizootics in April-June 2000-2002. However, in the references, there are no data on the phylogenetic or pathobiological properties of the epizootic strain of IAV (H7N7).

In 2002 and 2012, IAV (H4N6) were isolated from Caspian seals in Russian waters [28]. This seal isolate was closely related to avian IV of the classical Eurasian lineage.

From 2002-2010. A. Shestopalov et al. [29] conducted serological studies of sera from 298 cetaceans (*Tursiops truncatus* and beluga whales) of the Black Sea and Sea of Okhotsk on the presence of antibodies to IV in HI test using as antigens viruses (H1, H2, H4, H7 and H13) that had been isolated or diagnosed in marine mammals previously. Antibodies to these IV subtypes were not detected in any of the animals tested.

T. Harkonen et al. [30] 2007 investigated the epizootic among seals on the Danish islands. Anholt and along the coast of Sweden, where several thousand animals died. Weakness, swelling, emphysematous neck, difficulties in breathing and coughing up blood were observed in the affected individuals. Autopsy of dead seals revealed interstitial pneumonia, necrotising tracheitis and bronchitis. The stranded harbor porpoise carcasses with emphysematous manifestation were noted in the same regions. Based on the negative results of bacteriological tests of materials from the corpses and PCR analysis, the authors [29] believe that another viral pathogen could be the etiological agent of infection in seals and harbor porpoises. V.C. White [31], discussing the possible involvement of the IV in the 2007 epizootic among pinnipeds and

cetaceans in Scandinavia, suggests that this rare outbreak could have resulted from the introduction of a new virus variant into the population of one of these species with the subsequent interspecies transmission.

Marine mammal epizootics induced by IAV were registered in European waters in 2014. IAV (H10N7) was isolated from dead harbor seals (*Phoca vitulina*) on the North Sea coast in Sweden, Denmark, Germany and the Netherlands [32-33], where over 1400 animals died.

In the United Kingdom, sporadic cases of IAV have been reported in seals, including subtypes A (H3N8) isolated from juvenile grey seals (*Halichoerus grypus*) in Cornwall in 2017 [34], and A (H5N8) from grey seals and two common seals (*Phoca vitulina*) in Norfolk in 2020 [35]. Due to the lack of routine surveillance of marine mammal populations in the UK impossible to determine whether these are random IV or endemic to the British seal population [36].

Highly pathogenic IAV (H5N8) was detected in lung samples of two gray seals stranded on the Baltic coast of Poland in 2016 and 2017. The isolated virus was assigned to clade 2.3.4.4 B, which is closely related to the avian variant H5N8 circulating in Europe at the time [37].

In July 2022, the U.S. Department of Agriculture's Animal and Plant Health Inspection Service confirmed that samples from four seals washed ashore in Maine tested positive for highly pathogenic avian IAV (H5N1) [38]. The detection of avian influenza virus subtypes and H5N1, and H5N8 in seals indicates an ongoing risk of epizootic disease in seals encountering highly pathogenic variants of avian influenza pathogens at crossings of flyways, seasonal pinniped migrations and human activities.

A review article by V.C. White [31] summarizes the data on the IV cycle in the food chain of habitants of aquatic environments. It is known that water is the main transmission factor of IV, where they remain viable for several months. Viruses persist for a long time in the ice of water bodies and are also concentrated in filtering invertebrates [39, 40]. Fish can feed on bottom sediments, bird droppings, and detritus that contain large amounts of IV. In turn, fish and invertebrates contaminated with IV become food for fish-eating birds and seals [41]. In the alimentary route of infection, viruses entering the gastrointestinal tract of carnivores can enter the liver through the portal vein [34, 42].

IV has only one cluster of specific receptors on the cell surface. Their structure depends on the species and tissue origin, which determine the possibilities of interspecies transmission of influenza pathogens [43]. Different HA subtypes differ in their ability to recognize and bind sialic acid, which is coupled to galactose in the cell membrane oligosaccharide. The HA of human IV binds to sialic acid residues at the 2'– 6' bond position, while the HA of avian viruses binds to 2'– 3' bonds. The receptor specificity of HAs of influenza A viruses isolated from marine mammals with the sialooligosaccharides SA α 2,3Gal found in the lung epithelium of seals and whales [44]. This indicates the possibility of direct transmission of avian IV to marine mammals. In contrast to birds, seals have sialooligosaccharide receptors SA α 2,3Gal located in the lungs rather than the intestinal tract, which makes them more vulnerable to the airborne route of infection. [37, 45]

The study of the nature and intensity of binding of IV of different hosts to the cells of the respiratory organ epithelium of marine mammals is a determinant of their susceptibility to infection, as well as its productivity and pathogenesis features. In a histochemical analysis, A.J. Ramis et al. [38] found that waterfowl IV isolates similar to epizootic strains of pinnipeds (H4N5, H7N7) moderately bound to the receptors of the tracheal and bronchial epithelium of harbor and grey seals and partially interact with those of cetaceans (porpoise - *Phocoena phocoena*, Bottlenose dolphin). At the same time, alveolar epithelial cells of all four animal species showed only partial affinity to them. Based on the above data, it is suggested that a wide variety of avian IV can infect seals by direct transmission without prior adaptation.

In the previous work [38], it was shown that human pandemic (H1N1pdm) and seasonal (H3N2) IV taken in experiments weakly bound to the cells of the cetacean tracheobronchial epithelium and did not attach to such in seals. In their opinion, this fact proves the absence of

outbreaks of influenza infections in seals caused by human viruses. Nevertheless, in the literature, there are data on the disease of free-living Californian elephant seals with pandemic "swine" influenza (H1N1pdm) [21], and serological data on the infection of Caspian seals with A/Bangkok/1/79 (H3N2)-like epidemic viruses [8].

The detection of some subtypes of IAV in seal populations indicates that these animals are able to participate in the processes of genetic reassortment between IV of different origins, but they do not play a significant role in the ecology and evolution of the pathogen.

Influenza B virus in seals

Until 1999, the influenza B virus (IBV) was considered an exclusively human pathogen. However, more recently, it has been shown that harbor seals and harbor seals can be infected with this virus [46]. IBV was isolated from juvenile harbor seals with signs of respiratory disease and infected in vitro seal kidney cell culture. Since the establishment of marine mammals as new hosts, there have been several reports of detection of antibodies to IBV in some species of *Otarid* and *Phocid* seals. Based on these findings, it has been hypothesized that seals could serve as one of the reservoirs of the human influenza B virus [7, 47].

In order to determine whether IBV can circulate among seals a research group from Erasmus Medical Center (Rotterdam, The Netherlands) has analyzed 615 serum samples from pinnipeds (548 from harbor seals and 67 from grey seals) collected from the coast of the Netherlands and taken to the Seal Rehabilitation Center in Peterburen in 2002-2012. As a result, no specific antibodies to IBV were detected in samples collected from seals between 2002 and 2009 and after 2011. However, ten of the 170 sera collected in 2010-2011 showed antibodies to B/Yamanashi/166/98 in high titers by HI. In the same sera, anti-HAs to the prototype virus B/Seal/Netherlands/1/99 isolated from seals in Dutch coastal waters were detected in low titers [48]. The authors believe that the seals were infected with a virus similar to B/Yamanashi/166/98, which is antigenically different from B/Seal/Netherlands/1/99. It should be noted that no antibodies to IBV were detected in 79 porpoise sera collected between 2003 and 2013 in the same Dutch waters as seropositive sera from seals [49].

In our studies, the infection of Caspian seals with IBV was confirmed by serological analysis. The highest antibody titers were detected against the influenza B/Almaty/8/18 strain of B/Victoria viruses; somewhat lower antibody titers were detected against the B/Florida/4/2006 strain of B/Yamagata-like viruses. Antibodies in high titers were detected in serum samples of subadult seals, indicating the most recent infection of these animals with influenza B.

The analysis of literature data indicates that marine mammals are infected with various subtypes of influenza A virus. IAV with the antigenic formulas H1N1, H3N3, H3N8, H4N5, H4N6, H5N1, H5N8, H7N7, H10N7 have been isolated from pinnipeds to date and H1N3, H13N2, H13N9 from cetaceans. Single studies have shown possible circulation of IAV (H3N2), A (H4N6) and IBV among Caspian seals.

In this connection, it seems important to conduct complex ecological and virological monitoring of IV circulating among the Caspian seals being one of the possible reservoirs in nature where reassortation of avian IV' genes with the appearance of new variants of pathogens adapted to mammals and people can take place.

Funding

The research is funded by the Committee of Science of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (grant № AR08856073 "Research of viral metapopulation of the Caspian seal for early detection of pathogens of new and reemerging infections").

References:

- 1 <http://www.nmfs.noaa.gov/pr/health>
- 2 Furió V1, Moya A, Sanjuán R. The cost of replication fidelity in an RNA virus. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, Jul 19; 102(29), 10233-7. PMID:16006529

- 3 Steinhauer DA, Domingo E, Holland JJ. Lack of evidence for proofreading mechanisms associated with an RNA virus polymerase. *Gene*, 1992, Dec 15, 122(2), P.281-288. PMID:1336756
- 4 Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus AD, Fouchier R. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science*, 2006, 312, 384-388. PMID:17500589
- 5 Geraci J.R, St Aubin D.J, Barker I.K, et al. Mass mortality of harbor seals: pneumonia associated with influenza A virus. *Science*, 1982, 215, 1129-1131. PMID:7063847
- 6 Hinshaw V. S., Bean W. J., Webster R. G. et al. Are seals frequently infected with avian influenza viruses. *J. Virol*, 1984, 51, 863-865. PMID:3701925
- 7 Callan R.G., Early C., Rida H., Hinshaw V.S. The appearance of H3 influenza viruses in seals. *J. Gen. Virol*, 1995, 76 (Part 1), P. 199-203. PMID:7844533
- 8 Ohishi K., Ninomiya A., Kida H. et al. Serological evidence of transmission of human influenza A and B viruses to Caspian seals (*Phoca caspica*). *Microbiol Immunol*, 2002, 46(9), P. 639-44. PMID:12437032
- 9 Ohishi K, Kishida N, Ninomiya A, et al. Antibodies to human-related H3 influenza A virus in baikal seals (*Phoca sibirica*) and ringed seals (*Phoca hispida*) in Russia. *Microbiol Immunol*, 2004, 48(II), 905-909. PMID:15557750
- 10 Fuji K., Kakumoto Ch., Kobayashi M. et al. Serological evidence of Influenza A virus infection in Kuril harbour seals (*Phoca vitulina stejnegeri*) of Hokkaido, Japan. *J. Vet. Med Sci*, 2007. Aug., 69 (3), 259-263. PMID:17409641
- 11 Nielsen O., Clavijo A., Boughen J.A. Serologic Evidence of Influenza A Infection in Marine Mammals of Arctic Canada, *J Wildl Dis.*, 2001, 37(4), 820–825. PMID:11763748
- 12 Kozyreva M.V., Sokolova O.V., Jurov G.K., Alekseenkova S.V. Burkanov V.N., Jurov K.P. Vyjavlenie specificheskikh antitel k rjadu virusov mlekopitajushhih u sivucha (*Eumetopias jubatus*) Kuril'skikh ostrovov. V sb.: Morskie mlekopitajushhie Golarktiki: sbornik nauchnyh trudov po materialam V mezhdunarodnoj konferencii, Odessa, 2008, –628.
- 13 De Boer GF, Back W, Osterhaus ADME. An ELISA for detection of antibodies against influenza A nucleoprotein in humans and various animal species. *Arch Virol*, 1990, Vol.115, 47-61. PMID:2174233
- 14 Calle PP, Seagars DJ, McClave C, Senne D, House C, House JA. Viral and bacterial serology of six free-ranging bearded seals *Erignathus barbatus*. *Dis Aquat Organ*, 2008, 81, 77-80. PMID:18828565.
- 15 Calle PP, Seagars DJ, McClave C, Senne D., House C., House J.A. Viral and bacterial serology of free-ranging Pacific walrus. *J Wildl Dis.*, 2002, 38, 93-100. PMID:11838234.
- 16 Bogomolni AL, Gast RJ, Ellis JC, Dennett M, Pugliares KR, Lentell BJ, Moore MJ. Victims or vectors: a survey of marine vertebrate zoonoses from coastal waters of the Northwest Atlantic. *Dis Aquat Organ*, 2008 Aug 19;81(1), 13-38. doi: 10.3354/dao01936. PMID:18828560
- 17 Lvov D.K., Zhdanov V.M., Sazonov A.A. et al. Comparison of influenza viruses isolated from man and from whales. *Bull. WHO*, 1978, 56, 923-930. PMID:310734
- 18 Hinshaw V.S., Bean W.J., Geraci J.R. Characterization of two influenza A viruses from a pilot whale. *J Virol*, 1986, 58, 655-656. PMID:3701925
- 19 Groth M., Lange J., Kanrai P., Pleschka S., Scholtissek C., Krumbholz A., Platzer M., Sauerbrei A., Zell R.. The genome of an influenza virus from a pilot whale: Relation to influenza viruses of gulls and marine mammals. *Infect Genet Evol*, 2014, 24, 183-186. doi: 10.1016/j.meegid.2014.03.026.
- 20 Goldstein T., Mena I., Anthony SJ. et al. Pandemic H1N1 Influenza Isolated from Free-Ranging Northern Elephant Seals in 2010 off the Central California Coast. *PLoS ONE*, 2013, 8(5): e62259. doi:10.1371/journal.pone.0062259
- 21 Anthony S.J, et al. Emergence of fatal avian influenza in New England harbor seals. *mBio*, 2012, № 3(4):e00166-12. doi:10.1128/mBio.00166-12.
- 22 Jamnikova S.S., Gambarjan A.S., Fedjakina I.T. i dr. Monitoring za cirkulacijej virusov grippa A v populacijah dikih ptic Severnogo Kaspija. *Vopr. Virusol*, 2001, 4, 39-43.
- 23 Ohishi K., Ninomiya A., Kida H., Park C., Maruyama T., Arai T., Katsumata E., Tobayama T., Boltunov A., Khuraskin L., Miyazaki N. Serological evidence of transmission of human influenza A and B viruses to Caspian seals (*Phoca caspica*). *Microbiology and Immunology*, 2002, 46(9), 639-44. PMID:12437032.
- 24 Shestopalov A.M., Beklemishev A.B., Huras'kin L.S. i dr. Para- i ortomiksovirusy u kaspijskikh tjulenej. V sb.: Morskie mlekopitajushhie Golarktiki: sbornik nauchnyh trudov po materialam II mezhdunarodnoj konferencii, Moskva: KMK, 2002, 294.

25 Durymanova A.A., Belikov S.I., Zolotyh S.I. i dr. Monitoring infekcionnyh zabolevanij kaspijskih tjulenij (*Phoca caspica*). V sb.: Morskie mlekopitajushhie Golarktiki: sbornik nauchnyh trudov po materialam III mezhdunarodnoj konferencii, Moskva, KMK, 2004. - 609.

26 Chuvakova Z.K., Ikranbegijn R., Glebova T.I. i dr. Gripp u tjulenej: Obzor informacii i rezul'taty jekspedicii na Severnyj Kaspij v svjazi massovoj gibel'ju tjulenej v 2000 g., Izv. NAN RK. Ser. biol. i med., 2001, 3. 47-54

27 Bekmagambetova A.Zh., Ikranbegijn R., Glebova T.I. Immunofermentnaja diagnostika binarnoj miksovirusnoj infekcii vo vremja massovoj gibeli tjulenej na Severnom Kaspii letom 2000 g. V sb.: 1 Mezhdunar. nauch. konf. molodyh uchenykh i studentov, posvjashhennaja 10-letiju nezavisimosti Respubliki Kazahstan «Aktual'nye voprosy sovremennoj biologii i biotehnologii», Almaty, 2001, 159-161.

28 Gulyaeva M., Sobolev I., Sharshov K., Kurskaya O., Alekseev A., Shestopalova L., Kovner A., Bi Y., Shi W., Shchelkanov M., Shestopalov A. Characterization of Avian-like Influenza A (H4N6) Virus Isolated from Caspian Seal in 2012. *Virologica Sinica*, 2018, 33(5), 449-452. doi: 10.1007/s12250-018-0053-y. Epub 2018 Oct 17.

29 Shestopalov A.M., Alekseev A.Ju. Rozanova E.I., Abramov A.V. Virusy grippa u morskih mlekopitajushhih. V cb.: Morskie mlekopitajushhie Golarktiki: sbornik nauchnyh trudov po materialam VII mezhdunarodnoj, Kaliningrad: Kappoc, 2010, 654.

30 Harkonen T, Backlin BM, Barrett T, et al. Mass mortality in harbor seals and harbor porpoises caused by an unknown pathogen. *VetRec.*, 2008, 162, 555-556. PMID: 18441352

31 White V.C. A Review of Influenza Viruses in Seals and the Implications for Public Health, US Army Med Dep J., 2013, Jan-Mar, 45-50. PMID:23277445

32 Zohari S, Neimanis A, Härkönen T, Moraeus C, Valarcher JF. Avian influenza A(H10N7) virus involvement in mass mortality of harbour seals (*Phoca vitulina*) in Sweden, March through October 2014. *Euro Surveill*, 2014;19(46):pii=20967.

33 Krog JS, M Hansen MS, Holm E, Hjulsager CK, Chriél M, Pedersen K, Andresen LO, Abildstrøm M, Jensen TH, Larsen LE. Influenza A(H10N7) virus in dead harbor seals Denmark. *Emerg Infect Dis.*, 2015, 21(4), 684-7. doi: 10.3201/eid2104.141484.

34 Venkatesh D, Bianco C, Núñez A, Collins R, Thorpe D, Reid SM, Brookes SM, Essen S, McGinn N, Seekings J, Cooper J, Brown IH, Lewis NS. Detection of H3N8 influenza A virus with multiple mammalian-adaptive mutations in a rescued Grey seal (*Halichoerus grypus*) pup. *Virus Evol.*, 2020, 18;6(1), 016. doi: 10.1093/ve/veaa016.

35 Floyd T, Banyard AC, Lean FZX, Byrne AMP, Fullick E, Whittard E, Mollett BC, Bexton S, Swinson V, Macrelli M, Lewis NS, Reid SM, Núñez A, Duff JP, Hansen R and Brown IH. 2021. Systemic infection with highly pathogenic H5N8 of avian origin produces encephalitis and mortality in wild mammals at a UK rehabilitation centre. *bioRxiv*, 2021.2005.2026.445666. 10.1101/2021.05.26.445666

36 UK Health Security Agency. Influenza of avian origin in UK seal populations: qualitative assessment of the risk to the UK human population. Published 19 July 2022 <https://www.gov.uk/government/publications/avian-influenza-in-uk-seal-populations-hairs-risk-assessment/influenza-of-avian-origin-in-uk-seal-populations-qualitative-assessment-of-the-risk-to-the-uk-human-population#ENREF9>

37 Shin DL, Siebert U, Lakemeyer J, Grilo M, Pawliczka I, Wu NH, Valentin-Weigand P, Haas L, Herrler G. Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N8) Virus in Gray Seals, Baltic Sea. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25(12), 2295-2298. doi: 10.3201/eid2512.181472.

38 NOAA Fisheries. Recent Increase in Seal Deaths in Maine Linked to Avian Flu 2022

39 Smith AW, Skilling DE, Castello JD, Rogers SO. Ice as a reservoir for pathogenic human viruses: specifically, caliciviruses, influenza viruses, and enteroviruses. *Med Hypotheses*, 2004, 63, 560-566. PMID: 15324997

40 Faust C, Stallknecht D, Swayne D, Brown J. Filter-feeding bivalves can remove avian influenza viruses from water and reduce infectivity. *Proc Biol Sci.*, 2009, 276, 3727-3735. PMID: 19656788

41 Reperant L.A, Rimmelzwaan G.F., Kuiken T. Avian influenza viruses in mammals. *Rev Sci* 2009, 28 (1), 137-159. PMID:19618623

42 Thanawongnuwech R, Amonsin A, Tantilertcharoen R, et al. Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. *Emerging Infectious Diseases*, 11 (5), 699. PMID:15890122

43 Matrosovich, M., N. Zhou, Y. Kawaoka, R. Webster. 1999. The surface glycoproteins of H5 influenza viruses isolated from humans, chickens, and wild aquatic birds have distinguishable properties. *J. Virol.*, 1999, 1.73(2), 1146-1155. PMID:9882316

44 Ito T., Kawaoka Y., Noruma A., Otsuki K. Receptor specificity of influenza A viruses from sea mammals correlates with lung sialyloligosaccharides in these animals. *J. Vet. Med Sci.*- 1999, Aug. 61(8), 955-958. PMID:10487239

45 Ramis A.J., Debby van Riel, Marco W.G van de Bildt, Osterhaus A., Kuiken T. Influenza A and B Virus Attachment to Respiratory Tract in Marine Mammals. *Emerging Infectious Diseases*. 2012, 18, No. 5, May. 817-820. PMID:22516350

46 Osterhaus A.D.M.E., Rimmelzwaan G.F., Martina, B.E.E. et al. Influenza B virus in seals. *Science*, 2000, 288, 1051-1053. PMID:10807575

47 Blanc A, Ruchansky D, Clara M, Achaval F, Le Bas A, Arbiza J. Serologic evidence of influenza A and B viruses in South American fur seals (*Arctocephalus australis*). *J Wildl Dis.*, 2009, 45, 519-21. PMID:19395764

48 Bodewes R., Morick D., de Mutsert Gerrie, Osinga N., Bestebroer T. et al. Recurring Influenza B Virus Infections in Seals. *Emerging Infectious Diseases*, 2013, 19, No. 3, 511-512. PMID:23750359.

40 Bodewes R, van de Bildt MW, van Elk CE. et al. No serological evidence that harbour porpoises are additional hosts of influenza B viruses. *PLoS One.*, 2014, Feb 13;9(2):e89058. doi: 10.1371/journal.pone.0089058. eCollection 2014. PMID:24551217.