

Antibody Response and Viral Shedding Profile of Egyptian Geese (*Alopochen aegyptiacus*) Infected with Low Pathogenicity H7N1 and H6N8 Avian Influenza Viruses

Christina E. Burger, Celia Abolnik, and Geoffrey T. Fosgate
Contact Address: abolnik@arc.agric.za

Important Findings

Egyptian geese (*Alopochen aegyptiacus*), a duck species endemic to sub-Saharan Africa and occasionally implicated in the transmission of avian influenza viruses (AIV) to farmed ostriches, were experimentally infected with low pathogenicity H7N1 and H6N8 viruses to assess viral shedding and immune profiles. Birds that received an initial infection with H7N1 virus were also challenged with H6N8 virus, and because a comparable shedding pattern to the H7N1 challenge group was observed, the researchers concluded that the effect of any nonspecific immunity was negligible.

Significance of Findings

Juvenile Egyptian geese, which are immunologically naïve, are expected to excrete the highest viral titers and should be targeted for surveillance. Published accounts from North America and Europe similarly found that the immunologically naïve juveniles migrating from their breeding sites are the birds who are most likely to shed and spread AIV. However, the study data also suggest that nonspecific cross-protecting immunity is limited, causing high titers of heterologous challenge strains being shed into the environment. Surveillance of adult geese for AIV thus remains a worthwhile initiative. Thus, the findings have implications for disease transmission models in Africa, e.g., that have taken partial cross-protective immunity into account. Perhaps the lack of cross-protective immunity in this study was a function of the combination of strains used (H7N1 × H6N8), whereas different strains (H5N2 × H3N8; H3N8 × H5N2) were used in the studies where cross-protective immunity was reported. More infection studies should be performed on a wider range of African bird species, with the use of a wider range of low pathogenicity avian influenza (LPAI) subtypes and combinations to refine surveillance strategies for the region further.

Additional Information

Avian influenza (AI) is an infectious disease of birds, and occasionally mammals, caused by type A influenza viruses. Domestic poultry infected with any of the AIV serotypes show replication only within the respiratory or digestive tract, and experience no or very mild disease (LPAI). However, viruses of the H5 and H7 serotypes can mutate to the highly pathogenic notifiable avian influenza (HPNAI), producing a systemic infection and serious, highly contagious disease. HPNAI not only causes great economic losses but also has zoonotic potential.

Most hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) antigen combinations have been isolated from over 105 avian species, representing more than 26 families of aquatic birds. Wild aquatic birds are considered the natural AIV reservoir, and maintain a continuously reassorting AIV population. Wild aquatic birds do not

develop clinical signs or produce marked antibody responses to infection with LPAI viruses, and the viruses appear to be in a state of evolutionary stasis in these hosts.

AI viruses replicate in both the cells of the respiratory and the gastrointestinal tracts of aquatic birds, but have long been reported to favor the gastrointestinal tract, because many more viruses have been isolated from the latter in studies of wild mallards (*Anas platyrhynchos*) in the northern hemisphere. Reports have concluded that high concentrations of virus are excreted in feces into the environment, and other birds are consequently infected through ingestion. Other studies aimed at experimentally determining the viral shedding profiles and immune responses of domestic ducks to infection with AIVs found that viral shedding peaked at day 2 to day 4 postinfection and lasted up to 14 days, with antibody responses lasting 21 days. In contrast, in a study where two HPAI strains were used to infect Pekin ducks (*Anas peking*), viral shedding was only detected on days 1–5 postinfection. Kida *et al.* experimentally inoculated Pekin ducks with LPAI H7N2, H4N1, H3N2, H1N1 strains, and detectable shedding of virus in faeces did not exceed 21 days postinfection.

Outbreaks of HPNAI H5N2 affected farmed ostriches in South Africa in 2004, 2006, and 2011. These outbreaks were not epidemiologically associated, but phylogenetic analyses determined that the ostrich outbreak virus genes were similar to those isolated from wild ducks in the southern African region. The link between ostrich AIV outbreaks and regional wild duck viruses is not surprising, because wild birds frequently associate with the ostriches, attracted to the camps and irrigated pastures by a perennial source of food and water in an otherwise arid region. Egyptian geese, large ducks endemic to southern Africa, are abundant in the Klein Karoo region of the Western Cape Province where most outbreaks occur. The Egyptian goose achieved the highest AIV risk score in a study that assessed 16 local duck species based on range, abundance, mobility, roost, mixed flocks, foraging, and anthropogenic association. Frequency of contact between Egyptian geese and ostriches in the Klein Karoo region has also been proposed as a key factor for increased risk of farm-level H5 AI seropositivity. In support of the aforementioned predictions, H10N9, H4N2, and H1N8 viruses have been isolated from Egyptian geese in South Africa since 1998, and in a recent survey of southern African wild birds, 7 out of 125 (5.6%) of AIV positive swabs were collected from Egyptian geese, 1 of 35 species tested. Egyptian geese are thus important sentinels for AIV in the wild duck population in poultry-producing areas, especially ostriches.

Wild birds in the southern African region appear to behave opportunistically to environmental drivers (e.g., rainfall patterns, cultivated crop food availability); thus the ecology of avian influenza in wild duck populations appears much more complex than in the northern hemisphere, where there is a predictable annual cycle of virus circulation and strong seasonal variation in wild bird behaviors. This unpredictability complicates targeted surveillance, and there is also increasing evidence that LPAI shedding varies between duck species.

Respuesta de Anticuerpos y Perfil de la Infección Viral de Gansos Egipcios (*Alopochen aegyptiacus*) Infectados con un Virus de Influenza Aviar de Baja Patogenicidad H7N1 y H6N8

Christina E. Burger, Celia Abolnik, y Geoffrey T. Fosgate
Dirección para contactar: abolnik@arc.agric.za

Hallazgos Importantes

El ganso egipcio (*Alopochen aegyptiacus*), una especie de patos endémicos de África subsahariana y, en ocasiones asociado a la transmisión del virus de la influenza aviar (VIA) de avestruces de granja, fueron infectados experimentalmente con un virus de baja patogenicidad H7N1 y H6N8 para evaluar la diseminación viral y el perfil inmunológico. Las aves que recibieron una infección inicial con el virus H7N1 fueron desafiadas también con el virus H6N8, y debido a un patrón comparable de eliminación al grupo de desafío H7N1 observado, los investigadores concluyeron que el efecto de cualquier inmunidad inespecífica fue insignificante.

Relevancia de los Hallazgos

Los gansos egipcios jóvenes, que son inmunológicamente inexpertos, se espera que excreten los más altos títulos virales y deben ser objeto de vigilancia. Los informes publicados de América del Norte y Europa también determinaron que los menores inmunológicamente inexpertos que migran de sus parvadas son las aves que tienen más probabilidades de arrojar y difundir el virus de influenza aviar. Sin embargo, los datos del estudio también sugieren que la inmunidad no específica cruzada de protección es limitada, causando altos títulos de cepas de desafío heterólogas que se presentan en el medio ambiente. La vigilancia de gansos adultos para el VIA por lo tanto sigue siendo una iniciativa que vale la pena. Por lo tanto, los resultados tienen implicaciones para los modelos de transmisión de la enfermedad en África, por ejemplo, que han tenido parcialmente inmunidad cruzada en cuenta. Tal vez la falta de inmunidad cruzada en este estudio fue una función de la combinación de las cepas utilizadas (H7N1 × H6N8), mientras que las diferentes cepas (H5N2 × H3N8, H3N8 × H5N2) se utilizaron en los estudios cuando se informó de inmunidad cruzada. Más estudios de infección se debe realizar en una gama más amplia de especies de aves africanas, con el uso de una gama más amplia de subtipos y combinaciones de influenza aviar de baja patogenicidad (IABP) para perfeccionar las estrategias de vigilancia aún más para la región.

Información Adicional

La influenza aviar (IA) es una enfermedad infecciosa de las aves, y en ocasiones los mamíferos, causada por el virus de la influenza. Las aves infectadas con cualquiera de los serotipos de virus de influenza aviar demuestran la replicación sólo dentro de la vía respiratoria o digestiva, y la experiencia de la enfermedad de ninguna o muy leve (IABP). Sin embargo, los virus de los subtipos H5 y H7 de los serotipos puede mutar a la influenza aviar altamente patógena (IAAP), produciendo una infección sistémica y la enfermedad grave y muy contagiosa. La Influenza aviar altamente patógena no sólo causa grandes pérdidas económicas, sino que también tiene un potencial zoonótico.

La mayoría de las combinaciones antigénicas de hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) han sido aisladas de más de 105 especies de aves, que representan más de 26 familias de aves acuáticas. Las

aves acuáticas salvajes son consideradas el reservorio natural del virus de influenza aviar, y mantienen un continuo recurrimiento en las poblaciones de virus de influenza aviar. Las aves acuáticas silvestres no desarrollan signos clínicos o producen respuestas de anticuerpos marcados a la infección con virus de baja patogenicidad, y los virus parecen estar en un estado de estancamiento de la evolución en estos huéspedes.

Todos los virus de la IA se replican tanto en las células de las vías respiratorias y los tractos gastrointestinales de las aves acuáticas, sin embargo se ha reportado que se favorecen en el tracto gastrointestinal, debido a que muchos virus se han aislado más de este último en los estudios de patos silvestres (*Anas platyrhynchos*) en el hemisferio norte. Los informes han concluido que las altas concentraciones de virus que se excretan en las heces al medio ambiente, y otras aves se infectan a través de la ingestión en consecuencia. Otros estudios experimentales destinados a la determinación de los perfiles de infección por el virus y la respuesta inmune de los patos domésticos a la infección con virus de influenza aviar encontraron que la excreción del virus alcanzó su punto máximo en el día 2 hasta el día 4 después de la infección y se prolongó hasta 14 días, con las respuestas de anticuerpos después de 21 días. Por el contrario, en un estudio en el que dos cepas de influenza aviar altamente patógena se utilizó para infectar patos Pekín (*Anas pekín*), la excreción del virus se detectó sólo en los días 1-5 después de la infección. Kida *et al.* inoculó experimentalmente a patos Pekín de con cepas H7N2, H4N1, H3N2, H1N1, de influenza aviar de baja patogenicidad y la excreción detectable del virus en las heces no fue superior a los 21 días posteriores a la infección.

Los brotes de IAAP H5N2 afectó avestruces de granja en Sudáfrica en 2004, 2006 y 2011. Estos brotes no estaban asociados epidemiológicamente, pero los análisis filogenéticos determinado que los genes del virus de los brotes de avestruz eran similares a los aislados de patos silvestres en la región del sureste de África. La relación entre los brotes de virus de influenza aviar de avestruz y regionales de los virus de patos silvestres, no es de extrañar, ya que las aves silvestres se asocian frecuentemente con las avestruces, atraídos por los campos y pastos de riego de una fuente perenne de los alimentos y el agua en una región árida. Los Gansos egipcios, los patos grandes endémicos del sur de África, son abundantes en la región Klein Karoo de la Provincia Occidental del Cabo, donde ocurren la mayoría de los brotes. El ganso de Egipto logró la puntuación más alta de riesgo de VIA en un estudio que evaluó 16 especies de patos locales en función del alcance, la abundancia, la movilidad, las parvadas mixtas, la percha, forrajeros y la asociación antropogénica. La frecuencia de contacto entre los gansos egipcios y los avestruces de la región Klein Karoo también ha sido propuesto como un factor clave para el aumento del riesgo de H5 a nivel de seropositividad de IA en granjas. En apoyo de las predicciones mencionadas, los virus H10N9, H4N2 y H1N8 que han sido aislados de los gansos egipcios en Sudáfrica desde 1998, y en un reciente estudio de las aves silvestres del sureste de África, 7 de cada 125 (5,6%) de frotis positivos al VIA en fueron recolectados degansos egipcios, una de las 35 especies analizadas. Los Gansos egipcios son centinelas importantes para el VIA en los patos salvajes en zonas altamente productoras avícolas, especialmente las de avestruces.

Las aves silvestres en la región del sur de África parecen comportarse de forma oportunista a los conductores del medio ambiente (por ejemplo, los patrones de precipitaciones, la disponibilidad de cultivo de disposición de alimentos), por lo que la ecología de la influenza aviar en las poblaciones de patos silvestres parece mucho más compleja que

en el hemisferio norte, donde hay un ciclo predecible anual de la circulación del virus y la variación estacional fuerte en los comportamientos de las aves silvestres. Esta imprevisibilidad complica la vigilancia específica, y también hay evidencia creciente de que la excreción de IABP varía entre las especies de patos.