AVIARNA INFLUENCA

* povzročitelj
* virus influence
* gostitelj
* praktično vse toplokrvne vrste
* sesalci:

→ človek

→ prašiči (pogosto)

→ konji

→ govedo

→ kiti

→ delfini

→ tjulni

→ mačke (2004 prvič ugotovili pri tigru, ki je jedel perutninsko meso)

* kužuharji
* ptiči

→ vodna perutnina

→ purani

→ kokoši

→ piščanci

→ divje ptice

→ ratiti

* morfološke in antigenske značilnosti
* družina: Orthomyxoviridae
* RNK virus
* 80-120 nm
* antigenske značilnosti:

→ tip A, B in C: - nukleo protein

* matriks protein

→ podtip virusa – površinska glikoproteina:

* hemaglutinin (HA)
* neurami doza (NA)
* površinska antigena
* hemaglutinin

→ 15 podtipov: H1-H15 (H16?)

→ funkcije

* hemaglutinacijska aktivnost virusov
* vezava na receptorje celic gostiteljev
* penetracija v celico
* neuraminidaza

→ 9 podtipov: N1-N9

→ funkcije:

* čiščenje površino celic gostiteljice
* sproščanje viriona iz celice gostiteljice
* antigenska spremenljivost
* antigenski »DRIFT«: mutacija genov, ki kodirajo površnske glikoporoteine
* antigenski »SHIFT«: zamenjava oziroma izmenjava večjega genskega fragmenta v celici inficirani istočasno z dvema različnima podtipoma virusa influence A
* najpogostejši podtipi virusa influence A glede na vrste gostitelja

|  |  |
| --- | --- |
| podtip | vrsta gostitelja |
| H1N1 | ljudje, prašiči, purani |
| H3N1 |
| H3N8 | ljudje, konji |
| H5  H7 | ptice, morski sesalci, ljudje |

* značilnosti
* izredna antigenska spremenljivost
* pojavi pandemij pri ljudeh-visoke smrtne žrtve
* ob pandemijah v prejšnjem stoletju so bili izolirani naslednji virusi influence:

→ 1989: H2N2

→ 1900: H3N8

→ 1918: (španska gripa): H1N1

→ 1957 (azijska gripa): H2N2

→ 1968 (hongkonska gripa): H3N2

→ 1977 (ruska gripa): H1N1

* pandemije influence v zadnjih 100 letih

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| leto | tip virusa | št. smrtnih žrtev |
| 1887 | H2N2 | / |
| 1900 | H3N8 | / |
| 1918 | H1N1 | 20 milijonov |
| 1957 | H2N2 (azijska) | cca 1 milijon |
| 1968 | H3N2 (hongkonska) | cca 700.000 |
| 1977 | H1N1 (ruska) | / |
| 1997/98 | H5N1 | 18 |
| 2003 | H5N1, H7N7 | 31+1 |

* občutljivost virusa
* zaradi ovojnice so občutljivi za vse lipidna topila, detergente, formalin, beta propionlakton, amonijeve ione, eter, hidroksilamine, itd…
* občutljivi so na visoko temperaturo, pri 4 °C so infektivni več tednov, 20 °C pa sedem dni
* virus je stabilen v območju pH 5,5 – 8,0
* okolje ima zelo velik vpliv na preživetje virusa
* preživetje virusa v aerosolu je daljše pri nizki relativni vlagi in nizki temperaturi, medtem ko je preživetje virusa v blatu daljše pri visoki vlagi in nizki temperaturi
* čas preživetja virusa v okolju
* v iztrebkih najmanj 35 dni pri 4 °C
* v hlevu do 5 tednov
* v prahu do 14 dni po izpraznitvi hleva
* v jezerski vodi na 0 °C več kot 30 dni in na 22 °C do 4 dni
* v truplih pri 4 °C preživi 23 dni
* v truplih na sobni temperaturi preživi nekaj dni
* patogenost virusa influence
* zelo variabilna
* odvisna od

→ vrste gostitelja

→ imunega stanja gostitelja

→ antigenskega podtipa virusa (H5, H7)

* patogenost virusa influence
* vezano na mesto celjenja H

→ nizko patogeni virusi: tripsin (dihalo, prebavilo)

→ zelo patigeni virusi: proteaze prisotne v vseh celicah in tkivih (furin)

* patogenost virusa se pogosto spreminja v toku epidemije

→ v času epidemije aviarne influence v ZDA leta 1983-1984 (H5N2) najprej

povzročal relativno nizko mortalnost

→ v 6 mesecih je njegova patogenost zelo narasla, saj je poginilo tudi do 90 %

okuženih živali

→ enaka so tudi opažanja v primeru epidemije te bolezni v Italiji v letu 1999-2000

(H9N1)

* definicija aviarne influence po Council Directive 92/40/EEC
* (Official Journal of the European Communities – manj 1992)
* aviarna influenca pomeni infekcija perutnine povzročeno z virusom influence A, ki ima intravenozni patogeni indeks pri 6 tednov starih piščancih večji od 1,2 ali vsako infekcijo z inluenco A virusi podtipa H5 ali H7, za katere nukleotidno zaporedje demostrira prisotnost multiplih osnovnih Ak na mestu cepitve hemaglutinina
* zgodovinski podatki
* 1878 prvič opisano v Italiji (Perroncito) kot »resna bolezen piščancev«
* 1901 povzročitelj »fitrobilni agent« (Centanni in Savunozzi)
* 1984-1986 ZDA
* 1992-1995 Mexico
* 1999-2000 Italija
* 2003 Nizozemska, Belgija, Nemčija
* 2003/05 Vietnam, Južna Koreja, Tajvan, Tajska, Kambodža, Indonezija, Pakistan, Loas, Kitajska
* gostitelji
* divje ptice
* domača perutnina
* okrasne ptice in sesalci
* vodna perutnina: redko zboli, stalni vir bolezni
* prenos
* okužene ptice izločajo virus preko respiratornega trakta, fecesa, konjuktiv
* vnosi infekcij

→ druge vrste domače perutnine – pogost prenos iz rac na kokoši, fazanov na purane

→ ptice v kletkah – redko

→ divje ptice, predvsem ptice selivke

→ ostale živalske vrste – pogost prenos iz prašičev na purane

→ kontaminirana jajca, krma, oprema

* najpogostejši horizontalni prenos
* vertikalni prenos je bil dokazan le v primeru kontaminacije jajčne lupine in jajčne vsebine (ZDA)
* inkubacijska doba: nekaj ur do 14 dni
* klinični znaki
* ekstremno variabilo – LPAI
* prizadetost respiratornega, prebavnega, reprodukcijskega in živčnega sistema

→ depresija

→ zmanjšana ješčnost

→ zmanjšana nesnost

→ blagi respiratorni znaki – kihanje, kašljanje, nosni izcedek, izcedek iz oči, oteklina

sinusov

→ nasršenost perja

→ edem glave

→ cianoza kože (roža, noge)

→ driskavost

* mortalnost do 20 %
* HPAI (visoka patogena influenca)
* respiratorni znaki – kihanje, kašljanje, nosni izcedek, izcedek iz oči, oteklina sinusov
* ???
* vsi našteti znaki obolenja povsem izostanejo, živali le izjemno ???
* smrtnost je v takih primerih tudi 100 %
* patološko anatomske spremembe
* zelo variabilne –sum postavimo v primeru, če ugotovimo

→ močno polnokrvnost skeletne mišičnine

→ dehidracijo

→ blagi mukozni traheitis

→ edem podkožja glave, pa tudi ostalega telesa

→ katarlani, serozni, fibrinozni sinusitis

→ egg peritonitis (oviduktitis, enteritis – predvsem pri puranih)

→ močna polnokrvnost očesnih veznic ali pikčaste krvavitve po očesnih veznicah

→ izcedek iz nosnic ali iz kljuna

→ obilico mukoznega eksudata v svetlini sapnika ali močno hemoragično vnetje

sapnika

→ pikčaste krvavitve in ehimoze po maščobi trebušne votline in pod seroznimi

opnami

→ v telesni votlini razlit rumenjak ter vnetje peritoneja in zračnih vrečk

→ močna polnokrvnost ledvic, lahko tudi v kombinaciji z urikozo

→ krvavitve in nekroze po jajčnikih

→ krvavitve po sluznici žlezovnika, še posebej na stiku med žlezovnikom in

mlinčkom

→ krvavitve in erozije pod kutikulo mlinčka

→ vnetje ali krvavitve po sluznici črevesja, predvsem po iliocekalnih tonzilah

→ rumena nekrotična žarišča po trebušni slinavki, jetrih, vranici, ledvicah,…

→ značilna je cianoza nog in glave ter spremembe na možganih

* značilne mikroskopske spremembe
* mikroskopske spremembe v možganih, perivaskularni caffingi v možganski skorji
* pankreatitis z nekrotičnimi spremembami
* ???
* diferencialna diagnoza
* atipična kokošja kuga (Newcastle disease) – list A
* kolera perutnine (v perakutni obliki)
* mikopazmoze (sinusi, vnetje seroznih open)
* infekciozni laringotraheaitis (vnetje traheje)
* infekciozna korica (oteklina glav)
* rinotraheitis puranov (oteklina glav in spremembe na traheji)
* akutne zastrupitve (nestrjena kri, petehije po maščobi)
* tehnološke napake, ki povzročijo visoko smrtnost (zadušitve, toplotni stres, dehidracija)
* okužbe z virusi influence A pri prosto živečih pticah
* različni podtipi virusa influence A potrjeni pri 90 vrstah iz rodov ptic
* najpogosteje izolirani oz. serološko potrjeni pri vodnih pticah, še posebej divjih racah, okuženih pticah, čigrah in galebih
* klinični znaki redki, H5N1 Hong Kong – visok pogin s predhodnimi kliničnimi znaki
* prosto živeče ptice
* Južna Afrika 1961, čigra H5N3
* Nizozemska, Švedska 1999 in 2000 – divje race in gosi (1,4 var. 2,6%), galebi (11,1)

H1, H2, H3, H5, H6, H7, H10 in H11

* Italija 1993-1999: 60% prevalenca pri racah mlakaricah, najpogosteje determinirani podtipi, H5N2, H1N1 in H1N14
* Nova Zelandija 1997: divje race, H4 in H5
* Amerika 1998-2000: race, viruse influence A v 13,9% od 209 preiskanih kloakalnih vzorcev, najpogosteje ugotavljeni podtipi ???
* v skupini pobrežnikov in galebov sta najpogosteje ugotovljena podtipa virusa H9 in H???
* podtip H9 je sicer redko ugotovljen pri racah in goseh, podtip H13 pa pri teh pticah do sedaj še ni bilo potrjeno
* H5N1
* vodna perutnina in divje ptice – HongKong 2002
* visok pogin pri vodni perutnini in divjih pticah v dveh parkih 2002
* gosi, race, labodi, velik flamingo, golob, vrabci
* klinični znaki (24 ur): neješčnost, nesposobnost premikanja, slabost
* patološke spremembe:

→ kongestija visceralnih organov

→ edem pljuč

→ petehije na osrčniku in drugih seroznih opnah

→ krvava vsebina v lumnu tankega črevesja

→ nekrozna žarišča na pankreasu, cekalnih tonzilah in v jeternem parenhimu

* ptice v kletkah
* okužbe z virusi influence A so pri sobnih pticah redke
* 1975 v Veliki Britaniji prvič izolirali virus pri sobni ptici
* najpogosteje se pojavlja podtip H3 in ???
* ni kliničnih znakov obolenja
* tekači
* nij, emu, kazoar, rea
* izolirana večina podtipov virusa influence A (Južna Afrika, Nizozemska, Danska, ZDA, Italija)
* Italija: H7N1
* visoka morbidnost in mortalnost
* klinični znaki (predvsem pri mladih živalih):

→ depresija

→ neješčnost

→ krvava driska (brilijantno zelena)

→ tortikalis

→ tremor glave in vratu

→ paraliza kril

→ nekoordinirano gibanje

* patološke spremembe ugotovljene praktično na vseh organih, še posebej na prebavilih, jetrih, vranici, pljučih in osrčniku
* monitoring prosto živečih ptic v EU
* 1999 – 2000 vzorčnih 8787 ptic (race, gosi, galebi in druge)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| vrste ptice | št. testiranih | št. pozitivnih |
| gosi | 1387 | 20 (1,45%) |
| race | 2232 | 57 (2,6%) |
| galebi | 886 | 10 (1,1%) |
| druge | 4155 | 0 |
| skupaj | 8787 | 87 (1%) |

* diagnostika
* vzorci

→ kloakalni, trahealni brisi

→ feces

→ organi – praktično vsi

→ vzorci možganov, sapnika, pljuč, jeter, vranice in prebavil (žlezovnik, del črevesja,

ileocekalne tonzile in blato)

* izolacija in identifikacija virusa
* detekcija protiteles (HIT, AGP)
* klinični znaki
* patološka anatomske preiskave
* izolacija
* na kokošjih embrijih (9-11 dni)
* virus lahko povzroči zamiranje, izraženo hemoglutinacijska aktivnost
* identifikacija
* test inhibicije hemoglutinacije (HI test) z uporabo monospecifičnih antiseruov (H1-15, N1-9)
* določitev intravenskega indeksa patogenosti (IVPI)
* določitev Ak zaporedja hemoglutinina
* postopek za določitev IVPI
* 0,1 ml razredčenega virusa injiciramo intravenotno vsakemu od 10 šest tednov starih piščancev SPF ali brez protiteles proti HPAI
* živali opazujemo

1. ???
2. močno obolel (izražen eden od naslednjih kliničnih zankov: respiratorni znaki, deprsija, diareja cianoza kože in podbradkov,…)
3. poginja (poginjene živali se vodijo kot 2. vse dni do konca poskusa)

* indeks izračuna
* ko je indeks nad 1 je virus potrjen, sledi pobijanje, zaprejo se državne meje
* če virus pobije 6 piščancev od 10 je virus influence A prisoten
* indeks je srednja vrednost/piščanca/pregled (primer: 264/100=2,46)
* molekularna diagnostika
* RNA virusa aviarne influence dokazuje v različnih notranjih organih živali (sapnik, pljuča, prebavila, možgani,…) v kloakalnih brisih in fecesu
* prisotnost virusne RNA-RT-PCR
* začetni oligonukleotidi za pomnoževanje odseka na genu za virusni nukleoprotein (NP) (MMU19/MMU39) oz. odseka na gen za matrix protein s katerim dokazujemo vse virusne influence A
* produkte dokažemo z elektroforezo v agaroznem gelu
* dokazovanje protiteles proti virusu influence A
* s testom imunodifuzije v gelu

→ test temelji na določitvi protiteles proti virusu

→ Ag – skupinsko specifični Ag virusne influence A

→ reakvija je vidna v pojavu precipitirajoče linije v roku 72 ur

* s testom inhibicije hemaglutinacije (HIT)

→ HI titer je najvišja razdelitev seruma, ki povzroči popolno ????

* druga serološka testiranja

→ ELISA

→ IIF

→ imunofluerescenca

→ imunsko peroksidazni test

* ukrepi za preprečevanje in izkorenijenje aviarne influence
* zakon o veterinarstvu (Ul RS, št. 33/2001)
* pravilnik o kužnih bolezni živali (Ul RS, št. 54/02 in 63/03)
* navodila o ukrepih za ugotavljanje, preprečevanje in zatiranje določenih kužnih bolezni pri perutnini (Ul RS 30/99)
* načrt ukrepov v primeru izbruha aviarne influence
* preventivna cepljenja
* zaščitna cepljenja z uporabo inaktivnih vakcin, ki bi vseboval H5 ali H7 so v evropskem prostoru kot tudi v ZDA namenjena za izhod v sili
* v primeru drugih podtipov se z cepljenjem v določeni meri preprečuje klinične znake obolenja, obstaja pa možnost širjenja virusa z iztrebki
* Italija: vakcina → inaktivirna vakcina H7N3 (FLUVAC /), DIVA → poseben sistem cepljenja in je eden najbolj sprejemnljivih in se uporablja v Aziji
* vakcinacija matičnih jat puranov

|  |  |
| --- | --- |
| vakcinacija | dni |
| 1 | 15-30 |
| 2 | 40-50 |
| 3 | 100-110 |

* vakcinacija puranov

|  |  |
| --- | --- |
| vakcinacija | dni |
| 1 | 1-7 |
| 2 | 5-3 |
| 3 | 40-50 |
| 4 | 60-70 |

* ekonomske posledice
* vedno zelo obsežne
* eradikacija izbruha v Ameriki poginulo 17 milijonov različnih vrst perutnine, stroški (posredni kot neposredni), dosegli skoraj 400 milijonov dolarjev (1987)
* sanacija epidemije v Italiji: pokončali 13 milijonov živali, socialne stiske ljudi (2001)
* ocena neposrednih stroškov zatiranja izbruha na Nizozemskem lani je 270 milijonov EUR, posredni 1 milijon EUR (2003)
* Tajska 37 milijonov kljunov perutnine (2004)

* prenos AI na ljudi
* 1996: Anglija, vnetje očesne veznice, H7N7 (raca, purani)
* 1997: Hong Kong, 18 ljudi z dihalnimi motnajmi, 6 umrlo, H5N1
* 1998: Kitajska, 5 izolatov H9N2
* 1999:Hong Kng, dve deklici z dihalnimi obolenji, H9N2
* 2003: Nizozemska, 83 primerov vnetja očesnih veznic, 1 smrtni primer H7N1
* 2003/2005 – Azija 33 okuženih, 22 umrlih H5N1
* mesni izdelki in jajca
* v mesnih izdelkih virusov inaktivira navadna obdelava

→ 70 °C minimalno 30 minut

→ 75 °C minimalno 5 minut

→ 80 °C minimalno 1 minuto

* jajca

→ celo jajce: 64 °C minimalno 2,5 minut

→ rumenjak: 60 °C minimalno 35 minut

→ beljak: 55 °C minimalno 9,5 minut

* monitoring prosto živečih ptic v Sloveniji
* izvaja se vsako leto
* perutnina eksternih rej in divje ptice ter ostale vodne ptice
* vzorčenje

→ trahealni in kloaklani bris

→ kri

* vsi rezultati do zdaj negativni, razen pri andaluzijski gosi in navadni gosi je izoliran podtip virusa H6 v Sloveniji
* zaključek
* virusna influenca A so prisotni praktično pri vseh pticah, še posebej pri vodnih pticah in pticah selivkah
* pojavnost obolenja pri domači perutnini je odvisna od možnosti stika domače perutnine z divjimi pticami in obratno
* nadaljno širjenje bolezni pri perutnini je običajno posledica človeških faktorjev