

AVIARNA INFLUENCA

- povzročitelj
 - virus influence
- gostitelj
 - praktično vse toplokrvne vrste
 - sesalci:
 - človek
 - prašiči (pogosto)
 - konji
 - govedo
 - kiti
 - delfini
 - tjujni
 - 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 glikoproteine
 - 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 smrtno 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 (hongkongska 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 (hongkongska)	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 propionlaktone, amonijeve ione, eter, hidrosilamine, 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 patogeni 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 – maj 1992)
 - aviarna influenza 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 influenco A virusi podtipa H5 ali H7, za katere nukleotidno zaporedje demonstrira 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, Laos, 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, konjunktiv
- 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 variabilno – 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 influenza)
 - respiratorni znaki – kihanje, kašljanje, nosni izcedek, izcedek iz oči, oteklina sinusov
 - ???
 - vsi naštetni 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 rumenjaki 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 cuffingi 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 laringotraheitis (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 (zadužitve, 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 pobležnikov 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 kokošnjih embrijih (9-11 dni)
 - virus lahko povzroči zamiranje, izraženo hemaglutinacijska aktivnost

- identifikacija
 - test inhibicije hemaglutinacije (HI test) z uporabo monospecifičnih antiseruov (H1-15, N1-9)
 - določitev intravenskega indeksa patogenosti (IVPI)
 - določitev Ak zaporedja hemaglutinina

- 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
 - reakcija 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
 - imunofluorescenca
 - imunsko peroksidazni test

- ukrepi za preprečevanje in izkorenjenje aviarnе influence
 - zakon o veterinarstvu (Ul RS, št. 33/2001)
 - pravilnik o kužnih boleznih živali (Ul RS, št. 54/02 in 63/03)
 - navodila o ukrepih za ugotavljanje, preprečevanje in zatiranje določenih kužnih boleznih pri perutnini (Ul RS 30/99)
 - načrt ukrepov v primeru izbruha aviarnе 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 → inaktivna vakcina H7N3 (FLUVAC /), DIVA → poseben sistem cepljenja in je eden najbolj sprejemljivih 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)
 - Tajski 37 milijonov kljunov perutnine (2004)
- prenos AI na ljudi
 - 1996: Anglija, vnetje očesne veznice, H7N7 (raca, purani)
 - 1997: Hong Kong, 18 ljudi z dihalnimi motnjami, 6 umrlo, H5N1
 - 1998: Kitajska, 5 izolatov H9N2
 - 1999: Hong Kong, 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
 - rumenjaki: 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 influenza 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