

آفتلوانزای پرندگان

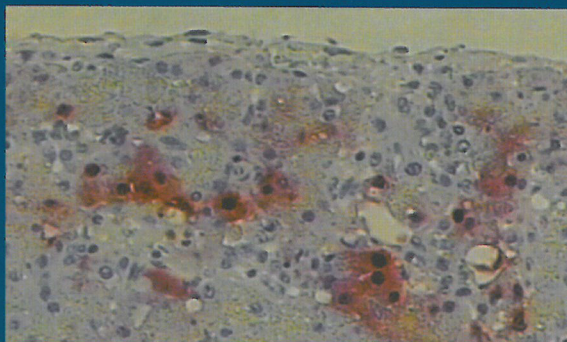
تالیف:

ایلاریا کاپوآ
فرانکو موتی نلی

ترجمه:

دکتر پروانه حصاری

دکتر جعفر پازانی



آنفلوآنزای پرندگان

تالیف:

ایلاریا کاپوآ

فرانکو موتی نلی

ترجمه:

دکتر جعفر یازانی

دستیار تخصصی بخش بیماری‌های طیور
دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

دکتر پروانه حصاری

دستیار تخصصی بخش بیماری‌های طیور
دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

خواننده گرامی:

شرکت سواپارس به عنوان نماینده شرکت فرانسوی CEVA Sante Animale در ایران مفتخر است در راستای سیاست اطلاع‌رسانی و ترویجی خود و پیرو چاپ چندین عنوان کتاب در زمینه بهداشت و نیز پرورش طیور، اینک کتاب آنفلوآنزای پرندگان را تقدیم دارد. امید است این مجموعه نیز بتواند اطلاعات مفیدی در تشخیص و کنترل بیماری آنفلوآنزا در اختیار شما خواننده گرامی قرار دهد.

سرشناسه	:	کاپوآ، ایلاریا Capua, Ilaria
عنوان و پدیدآور	:	آنفلوانزای پرندگان / ایلاریا کاپوآ و فرانکو موتی‌نلی، مترجمان جعفر پازانی و پروانه حصاری.
مشخصات نشر	:	تهران: قله، ۱۳۸۵.
مشخصات ظاهری	:	۱۳۷ ص.: مصور (رنگی)، جدول.
شابک	:	964-7546-09-2
یادداشت کلی	:	فهرست‌نویسی بر اساس اطلاعات فیپا
یادداشت	:	عنوان اصلی: Influenza aviaria= A colour atlas and text on avian influenza
یادداشت	:	کتابنامه: ص. ۱۳۵-۱۳۷.
موضوع	:	آنفلوانزای مرغی.
موضوع	:	پرندگان ناقل بیماری.
شناسه افزوده	:	موتی‌نلی، فرانکو
شناسه افزوده	:	Mutinelli, Franco
شناسه افزوده	:	پازانی، جعفر
شناسه افزوده	:	حصاری، پروانه
رده‌بندی کنگره	:	۱۳۸۵ ک ۲ ۶۸۸/۹۹۵ SF
رده‌بندی دیویی	:	۶۳۶/۵۰۸۹۶۲۰۳
شماره کتابخانه ملی	:	۸۵-۴۵۰۸۹ م



آنفلوانزای پرندگان

تألیف: ایلاریا کاپوآ - فرانکو موتی‌نلی

ترجمه: دکتر جعفر پازانی - دکتر پروانه حصاری

ناشر: نشر قله

نوبت چاپ: اول، ۱۳۸۶

تیراژ: ۱۰۰۰ جلد

قیمت: ۴۵۰۰۰ ریال

ISBN 964-7546-09-2

شابک: ۹۶۴-۷۵۴۶-۰۹-۲

فهرست

چ	پیش‌گفتار نویسندگان
ح	پیش‌گفتار مترجمین
خ	تشکر و سپاسگزاری
ذ	پیش‌گفتار
۱	۱. مقدمه‌ای بر آنفلوآنزای پرندگان
۷	۲. همه‌گیری آنفلوآنزای پرندگان در ایتالیا در سال‌های ۲۰۰۰-۱۹۹۹
۱۳	۳. اتیولوژی آنفلوآنزای پرندگان
۱۷	۴. آنفلوآنزای کم‌حدت و آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان در بوقلمون (<i>Meleagris gallopavo</i>)
۲۱	۵. آنفلوآنزای کم‌حدت و آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان در مرغ (<i>Gallus gallus</i>)
۲۷	۶. آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان در شترمرغ (<i>Struthio camelus</i>)
۳۱	۷. آنفلوآنزای کم‌حدت و آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان در مرغ شاخ‌دار (<i>Numida meleagris</i>)
۳۳	۸. آنفلوآنزای کم‌حدت و آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان در بلدرچین ژاپنی (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)
	۹. آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان در اردک مسکوی (<i>Cairina moschata</i>)
۳۵	و غازهای اهلی (<i>Anser anser var. domestica</i>)
۶۱	۱۰. اعمال مدیریت در همه‌گیری
۹۱	۱۱. روش‌های تشخیص
۹۷	۱۲. قوانین مصوبه اتحادیه اروپا
۱۳۱	۱۳. لیست آزمایشگاه‌های ملی
۱۳۵	۱۴. مراجع

همه گیری تیفوئید در طیور

نگارش:

پروفسور CAV. EDOARDO PERRONCITO

دبیر و عضو دائم

بازخوانی و تصویب در جلسه

مورخه ۲ فوریه ۱۸۷۸

بیماری کشنده و حادی طیور تحت پرورش در دشت‌ها و تپه‌های اطراف تورین را در اواخر پاییز و در طی زمستان درگیر کرده است. این بیماری در برخی روستاها به شکل یک بیماری ملایم شروع شد و ادامه یافت در حالی که در بقیه نقاط باعث خسارات فراوان و خالی شدن بسیاری از سالن‌های مرغداری شد. در آغاز تنها تعداد کمی از فارم‌ها درگیر شدند ولی بعد از آن تعداد آن‌ها بیشتر و بیشتر شد و در طی چند ماه در برخی روستاها و شهرها یک کشتار واقعی اتفاق افتاد.

یادداشت نویسنده:

این دست‌نوشته کوچک، ترجمه مطالب نوشته شده به وسیله E. Perroncito در سال ۱۸۷۸ است که به عنوان اولین گزارش منتشر شده از یک همه‌گیری آنفلوآنزای پرندگان می‌باشد. در توصیف او از این بیماری، یک بیماری ملایم اولیه به یک همه‌گیری بسیار کشنده تغییر شکل یافته است و این مطلب احتمالاً اولین جهش ویروسی مستند شده از آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان به آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان می‌باشد.

پیش‌گفتار نویسندگان

در طی سال ۱۹۹۹، شمال شرق ایتالیا با یک همه‌گیری آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان (LPAI) حاصل از یک ویروس تحت تیپ H7N1 درگیر شد. این همه‌گیری ۱۹۹ فارم را درگیر کرد و خسارات قابل توجهی به صنعت طیور وارد نمود (۶). در ماه دسامبر سال ۱۹۹۹، ویروس کم‌حدت LPAI تحت تیپ H7N1 تبدیل به ویروس آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI) شد و به سرعت گسترش یافت و به دنبال درگیری ۴۱۳ فارم، باعث مرگ و میر مستقیم و یا غیرمستقیم بیش از ۱۳ میلیون پرنده از گونه‌های مختلف شد (۹، ۸، ۷ و ۵). مشخصه خاص این همه‌گیری ایتالیا در سال‌های ۲۰۰۰-۱۹۹۹، درگیری تنوع زیادی از گونه‌های پرندگان شامل طیور صنعتی، بوقلمون، شتر مرغ، مرغ شاخ‌دار، بلدرچین ژاپنی (*Coturnix coturnix japonica*)، قراول، اردک سفید و تعدادی از پرندگان با پرورش آزاد بود.

کتاب مصور حاضر به منظور گردآوری مجموعه‌ای از اطلاعات بالینی و یافته‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی مشاهده‌شده در گونه‌های مختلف پرندگان درگیر در این همه‌گیری برای خوانندگان تهیه شده است.

به علاوه، این کتاب اطلاعات دیگری را نیز در خصوص همه‌گیری‌ها، مدیریت آن‌ها، تشخیص‌های آزمایشگاهی و قوانین اتحادیه اروپا شامل می‌شود که می‌تواند مفید واقع شود. همچنین یک CD-Rom (به سه زبان انگلیسی، ایتالیایی و اسپانیولی) به انضمام کتاب می‌باشد که می‌تواند چهره‌های مختلف بیماری را پوشش دهد و حاوی تصاویر بیشتر و فیلمی از علائم بالینی و یافته‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی و نیز اطلاعات جامع‌تری در خصوص مدیریت همه‌گیری و قوانین رایج مربوط به آن می‌باشد.

ایلاریا کاپوآ

فرانکو موتی‌نلی

پیش‌گفتار مترجمین

براساس اطلاعات موجود پیرامون تاریخچه وقوع و شیوع بیماری آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان در جهان، وقوع این بیماری به‌خصوص در کشورهایی که در مسیر مهاجرت پرندگان آزادی قرار دارند تا حدودی غیرقابل اجتناب است و پس از آن گسترش عفونت از طریق حاملین زنده و پرندگان آلوده و یا انتقال مکانیکی آن از طریق جابه‌جایی مواد و وسایل آلوده انجام می‌شود. از آنجایی که شواهدی دال بر انتقال از طریق هوا وجود ندارد، بنابراین اصل اول در کنترل این بیماری رعایت بهداشت و اصول امنیت زیستی می‌باشد. بدین منظور اطلاع‌رسانی و آموزش افراد در سطوح مختلف حرفه‌ای در جهت محافظت گله‌ها در چالش با ویروس بسیار کمک‌کننده خواهد بود.

کتاب حاضر ترجمه‌ی کتاب آنفلوآنزای پرندگان است که در سال ۲۰۰۱ میلادی نگارش شده و شامل اطلاعات مفید و مفصلی از بیماری آنفلوآنزا در گونه‌های مختلف پرندگان و مدیریت برخورد با نوع بسیار حاد آن بر اساس قوانین اتحادیه اروپا در زمان نگارش کتاب می‌باشد. بدیهی است راه مبارزه با این بیماری و کنترل آن یک روش واحد ندارد و کلیه سازمان‌های جهانی از قبیل FAO نیز بر این امر اصرار دارند که استفاده از سیاست‌های متفاوت و متناسب و نیز ابزار متعدد در امر کنترل بیماری آنفلوآنزای پرندگان باید مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین در نظر گرفتن واقعیت‌های موجود در ساختار صنعت طیور هر کشور می‌تواند بهترین راهنما برای اخذ سیاست‌های کنترلی این بیماری در آن کشور باشد.

امید است این مجموعه کمکی در جهت شناخت بهتر از بیماری و روش‌های کنترلی آن باشد.

در پایان لازم می‌دانیم از مدیریت محترم شرکت سواپارس جناب آقای مهندس زرین به خاطر فراهم آوردن فرصت چاپ این کتاب کمال تشکر را داشته باشیم. همچنین از همکاری و همیاری صمیمانه جناب آقای دکتر صابری، جناب آقای مهندس چگینی و جناب آقای دکتر احمدی سپاسگزاری می‌کنیم.

دکتر پروانه حصاری

دستیار تخصصی بخش بیماری‌های طیور
دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

دکتر جعفر پازانی

دستیار تخصصی بخش بیماری‌های طیور
دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تشکر و سپاسگزاری

با سپاس فراوان از Giovanni Vincenzi مدیر منطقه‌ای اداره پیشگیری ناحیه Vento برای حمایت و تشویق‌های ایشان در جهت چاپ این کتاب. با تشکر از Francesco Maria Cancellotti مدیر انستیتو Zooprifilattico Sperimentale delle Venezie برای رهنمودهایشان. با سپاس فراوان از Dipartimento Alimentazione, Nutrizione, Sanita Pubblica Veterinaria مدیر Romano Marabelli و همچنین از Michele Brichese, Ugo Santucci و Andrea Moroni به خاطر حمایت‌هایشان. ما مدیون تمام همکارانی هستیم که نمونه‌های پاتولوژی را تهیه کردند و امکان چاپ این کتاب را فراهم نمودند، به ویژه:

دامپزشکان فارم

Maurizio Bellani, Ezio Bianchi, Francesco Burlini, Marco Della Valentina, Sergio Frison, Veniero Furlattini, Luigi Gavazzi, Maurizio Mingardo, Giacomo Monaco, Carlo Motta, Carlo Orlando, Giovanni Ortali, Angelo Pandolfo, Luigi Sperati, Luca Zomer, Sandro Zuanni

دامپزشکان بخش دولتی

تمام دامپزشکان بخش دولتی در ناحیه Veneto. با سپاس از تمام کارکنان انستیتو Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie که با مشارکت و همکاری اطلاعات این مجموعه را فراهم نمودند.

بخش بیماری‌های عفونی و کنترل بیماری‌های مشترک

به مدیریت Carlo turilli

آزمایشگاه مرجع ملی برای بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوآنزای پرندگان
و آزمایشگاه ویروس‌شناسی

Valentina Bertazzo, Elena Bertoli, Loredana Betto, Laura Biasion, Laura Boscarato, Valeria Brasola, Debora Buson, Marilena Campisi Lo Schiavo, Giovanni Cattoli,

Giovanni De Rosa, Sonia Fassina, Patrizia Gambarin, Federica Gazziero, Barbara Grossele, Francesco Montesi, Serafino (Berto) Pianta, Cristina Saccardin, Claudia Sandonà, Calogero (Lillo) Terregino, Barbara Tramontan, Laura Zambon, Giancarlo Zancopè, Antonio Zuin

آزمایشگاه هیستوپاتولوژی

Lara Basilicata, Maria Augusta Bozza, Pierangela Cellegghin, Erica Melchiotti

واحد اپیدمیولوژی دامی (CREV) به مدیریت Stefano Marangon

Manolla Bettio, Laura Bortolotti, Manuela Dalla Pozza, Nicola Ferrè, Grazia Manca, Nicola Pozzato

همچنین با تشکر فراوان از:

کارکنان آزمایشگاه مرجع اتحادیه اروپا برای بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوآنزای پرندگان سازمان آزمایشگاه‌های دامپزشکی، (ویبریج)، Addlestone، UK:

Dennis Alexandre و به‌ویژه Lynn Plowright, Alessandra Piccirillo, Jill Banks و Ruth Manvell برای کمک‌های فنی ایشان. و نیز با تشکر از کمیسیون اتحادیه اروپا و به‌ویژه James E. Pearson و Bernard Vallat Maria Pittman و Jorgen Westergaard OIE از California Extension Service، H.L. Shivaprasad و Fresno Branch از University of California، Davis، USA برای تهیه تصاویر ۵۴، ۵۵ و ۵۶.

از D.E. Swayne، SEPRL، USDA، 934 College Station Road، Athens، GA، USA برای تهیه آنتی‌بادی‌های منوکلونال مورد استفاده در آزمایشات ایمنوهِیستوشیمی.

از G. Veronesi برای تهیه تصاویر ۶۲، ۶۳ و ۶۵. از Maria Lourdes Delgado Montero برای ترجمه متن به اسپانیولی. و از Gabriele Ranzi برای ویرایش کتاب. همچنین با تشکر از Avian pathology برای اجازه استفاده از تصاویر ۵، ۸۴، ۸۶، ۸۷ و ۸۸.

و با تشکر از حمایت‌های مالی مدیر منطقه‌ای اداره پیشگیری ناحیه Veneto برای تهیه اطلس و از مریال ایتالیا (S.P.A., Chignolo, Italy) برای تهیه CD-Rom.

ایلاریا کاپوآ

فرانکو موتی‌نلی

پیش‌گفتار

فرم بسیار حاد آنفلوآنزای پرندگان (HPAI) یک بیماری ویرانگر است؛ ولی خوشبختانه طی ۴۲ سال اخیر* تنها ۱۸ بار در طیور صنعتی و یک بار در پرندگان وحشی نمایان شده است. ویروس‌های کم‌حدت آنفلوآنزای پرندگان (LPAI) در پرندگان وحشی به‌خصوص گونه‌های آبی به عنوان ناقلین بزرگ بقا می‌یابند و با ورود به طیور صنعتی باعث بیماری و مشکلات قابل توجهی می‌شوند؛ به‌ویژه اگر با عفونت‌های دیگر و یا فاکتورهای نامساعد محیطی همراه گردد، مشکل بیماری تشدید خواهد شد.

براساس تئوری‌های رایج، ویروس HPAI تنها از موتاسیون ویروس‌های کم‌حدت به دنبال ورود آن‌ها به طیور صنعتی مشتق می‌شوند. اغلب این گونه به نظر می‌آید که این روند خیلی زود بعد از ورود اولیه ویروس رخ داده است ولی در USA در سال ۱۹۸۳، مکزیک ۱۹۹۴ و ایتالیا ۱۹۹۹ ویروس کم‌حدت قبل از جهش و تبدیل به فرم حاد آن چندین ماه در بین جمعیت طیور حضور داشته است که مورد آخر در این اطلس مورد بحث قرار گرفته است. همه‌گیری H7N1 آنفلوآنزای پرندگان و رخداد آن به وسیله ویروس کم‌حدت و بسیار حاد طی سال‌های ۲۰۰۰-۱۹۹۹ در شمال شرقی ایتالیا فرصتی طلایی را برای جمع‌آوری اطلاعات بیماری، اطلاعات اپیدمیولوژی و کنترل یک همه‌گیری فراهم آورد که نهایتاً باعث از بین رفتن چهار میلیون پرنده شد.

دو نویسنده این کتاب از هنگام تشخیص‌های اولیه عفونت کم‌حدت تا انتهای شیوع بیماری حاصل از فرم بسیار حاد آن در خصوص تشخیص و کنترل همه‌گیری صمیمانه تلاش کردند و از ثمره دانش و اطلاعاتشان در جهت پوشش تمام جنبه‌های عملی همه‌گیری بهره جستند. تصاویر جمع‌آوری شده از یافته‌های بالینی، ماکروسکوپی و میکروسکوپی مشاهده شده در گونه‌های مختلف پرندگان طی این همه‌گیری، اطلاعات باارزشی را برای تسریع در فهم بیماری‌زایی هر دو شکل آنفلوآنزای کم‌حدت و بسیار حاد پرندگان برای خواننده فراهم می‌کند. گو این که بخش‌های دیگر شامل راهنمای حوادث غیرمترقبه،

*. یادداشت مترجمین: منظور تا سال ۲۰۰۱ می‌باشد.

بخش مدیریت همه‌گیری و تشخیص بیماری می‌تواند اثباتی بر ارزش والای آن برای افراد دخیل در کنترل یک همه‌گیری آنفلوآنزای پرندگان باشد.

دامپزشکان فارم و کارشناسان آزمایشگاه‌های تشخیصی، ویروس‌شناسان، آسیب‌شناسان و تمام کسانی که در زمینه کنترل بیماری‌های دامی فعالیت دارند، می‌توانند این کتاب را مورد توجه و استفاده قرار دهند و از نویسندگان این کتاب برای جمع‌آوری تصاویر و اطلاعات تقدیر کنند و نیز تجارب باارزش خودشان را در دسترس دیگران قرار دهند.

دنيس الكساندر

مدیر آزمایشگاه مرجع اتحادیه اروپا برای آنفلوآنزای پرندگان

VLA Weybridge, Addlestone, Surrey, UK

مقدمه‌ای بر آنفلوآنزای پرندگان

آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان نخستین بار در سال ۱۸۷۸ میلادی توسط یک دانشمند ایتالیایی به نام Edoardo Perroncito شناسایی شد (۱۵). نکته حائز اهمیت در این گزارش این است که او یک بیماری مسری را توصیف می‌کند که در مرغداری‌های واقع در تپه‌های اطراف تورین^۱ با علائم کلینیکی ملایم شروع شده و در پی آن به شدت بیماری‌زا گشته است به طوری که تقریباً باعث مرگ و میر تمام پرندگان اهلی و پرورشی آن ناحیه شده است. بر این اساس می‌توان گفت علائم کلینیکی خفیف اولیه که به وسیله Perroncito گزارش شده است به وسیله ویروس آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان (LPAI)^۲ به وجود آمده و متعاقباً در پی چرخش ویروس در جمعیت‌های حساس پس از یک مدت زمان قابل توجه تبدیل به ویروس آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI)^۳ شده است.

در حقیقت با استفاده از روش‌های مدرن بیولوژی مولکولی در نمونه‌های مختلف (پنسیلوانیا ۱۹۸۳-۱۹۸۴، مکزیک ۱۹۹۵-۱۹۹۴ و ایتالیا ۲۰۰۰-۱۹۹۹) ثابت شده است که ویروس‌های آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان از منشأ ویروس‌های کم‌حدت تحت‌تیپ‌های H5 و H7 مشتق شده‌اند.*

اتیولوژی HPAI تا سال ۱۹۰۱ مشخص نشده بود تا این که دو دانشمند دیگر ایتالیایی به نام‌های Centanni و Savonuzzi (۱۰) نشان دادند که بیماری طاعون پرندگان^۴ را می‌توان با استفاده از نمونه‌های

1. Turin

2. Low Pathogenic Avian Influenza

3. Highly Pathogenic Avian Influenza

* یادداشت مترجمین: بر اساس تعاریف جدید OIE، بیماری آنفلوآنزای پرندگان در فرم‌های قابل گزارش آن [Notifiable Avian Influenza (NAI)] عبارت است از عفونی که توسط ویروس‌های آنفلوآنزای تحت‌تیپ H5 یا H7 یا هر ویروس آنفلوآنزایی با ضریب بیماری‌زایی داخل‌رگی (IVPI) بالاتر از ۱/۲ (به عبارت دیگر همراه با ۷۵٪ مرگ‌ومیر) ایجاد می‌گردد. براین اساس، ویروس‌های NAI را می‌توان به دو گروه: Highly Pathogenic Notifiable Avian Influenza (HPNAI) و Low Pathogenic Notifiable Avian Influenza (LPNAI) تقسیم نمود. بنابراین ویروس‌های آنفلوآنزای A گروه LPNAI، ویروس‌های مربوط به تحت‌تیپ‌های H5 یا H7 هستند که معیارهای حدت یعنی ضریب IVPI بالاتر از ۱/۲ (و یا مرگ و میر بالاتر از ۷۵٪ در آزمایش IVPI) و اسیدهای آمینه بازی متعدد در ناحیه شکافتگی ملکول هم‌آگلوتینین (HAO) را ندارند. (A)

4. Fowl plague

حاصل از اندام‌های پرندگان تلف‌شده از این بیماری و هموژن‌های اولترافیلترشده در آزمایشگاه دوباره در پرندگان سالم و حساس ایجاد نمود.

اتیولوژی و ویروس آنفلوآنزای پرندگان

بیشترین تنوع ویروس‌های آنفلوآنزای پرندگان از پرندگان وحشی به‌خصوص پرندگان آبی متعلق به راسته‌های غازسانان *Anseriformes* و پرندگان کرانه‌زی *Charadriiformes* جدا شده است. به علاوه به نظر می‌آید که این پرندگان به عنوان مخازن این ویروس مطرح باشند و به عنوان یک مخزن ژنی باعث تداوم و جاودانگی این ویروس در طبیعت گردند.

این پرندگان تنها باعث بقا و ماندگاری ویروس‌های کم‌حدت می‌باشند زیرا تعداد قابل توجهی از ویروس‌های LPAI از این گونه پرندگان منشأ می‌گیرند در حالی که هیچ ویروس بسیار حادی در این پرندگان شناسایی نشده است.

در حقیقت به نظر می‌آید که آن‌ها به منزله میزبان‌های طبیعی ویروس آنفلوآنزای پرندگان هستند و به‌خوبی با آنان سازگار شده‌اند و در مقابل، پرندگان اهلی (راسته *Galliformes*، خانواده *Phasianidae*) به عنوان میزبان طبیعی این ویروس‌ها مطرح نیستند. بنابراین میزان سازگاری آن‌ها با ویروس کم می‌باشد و این موضوع می‌تواند علت بروز اغلب جهش‌های ثبت شده ویروس را در پرندگان اهلی توضیح دهد. در حقیقت تنها مورد شیوع آنفلوآنزای بسیار حاد در پرندگان وحشی در سال ۱۹۶۱ در آفریقای جنوبی بود که باعث مرگ و میر تقریباً ۱۳۰۰ چلچله دریایی^۱ شد.

شیوع آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان از سال ۱۹۵۹

از زمان شناسایی HPAI به عنوان یک بیماری ویروسی حاصل از ویروس آنفلوآنزا در سال ۱۹۵۵ و شناسایی دو تحت‌تیپ ویروس (H5 و H7) به عنوان عوامل احتمالی HPAI در سال ۱۹۵۹ تا سال ۲۰۰۱، نوزده همه‌گیری در سرتاسر دنیا ثبت شده است (۲) که هجده مورد در پرندگان اهلی و تنها یکی از آن‌ها در چلچله‌های دریایی بوده است.

1. *Sterna hirundo*

۱. مقدمه‌ای بر آنفلوآنزای طیور

تأثیرات این بیماری بر صنعت طیور در نواحی مختلف جغرافیایی که بیماری در آن وقوع یافته متفاوت بوده است. این تفاوت‌ها براساس میزان توسعه و ساختار صنعت طیور آن ناحیه و نیز سیاست کنترلی به کار گرفته شده یعنی اجرای سیاست ریشه‌کنی در مقابل سیاست واکسیناسیون در آن ناحیه بوده است. به طور مشخص تاکنون همه‌گیری HPAI ایتالیا در سال ۲۰۰۰-۱۹۹۹ شدیدترین همه‌گیری در بین کشورهای اروپایی و حتی کل کشورهای دنیا بوده است.

اطلاعات مربوط به همه‌گیری‌های HPAI که از سال ۱۹۵۹ تا سال ۲۰۰۱ اتفاق افتاده در جدول ۱(۲)، ۱۹) گزارش شده است. جزئیات همه‌گیری ایتالیا در سال‌های ۲۰۰۰-۱۹۹۹ براساس تعداد موارد مشاهده‌شده در هر ناحیه، گونه و تعداد پرندگانی که تحت تأثیر قرار گرفتند در جدول ۲ گزارش شده و نیز گسترش جغرافیایی آن در تصویر ۱۰۷ نشان داده شده است.

جدول ۱

همه گیری‌های ثبت شده آنفلوآنزای بسیار حاد از زمان کشف آنفلوآنزای پرندگان به عنوان عامل به وجود آورنده طاعون پرندگان در سال ۱۹۵۵ [اقتباس از Swayne و Suarez (۱۹) و Alexander (۲)]

ویروس آنفلوآنزای پرندگان	تحت تیپ	تیپ و تعداد پرندگان مبتلا با مرگ‌ومیر بالا و یا پرندگان حذف شده (الف)
A/مرغ/اسکاتلند/۵۹	H5N1	دو گله گوشتی (<i>Gallus gallus domesticus</i>) تعداد کل پرنده‌های مبتلا گزارش نشده است.
A/چلچله/آفریقای جنوبی/۶۱	H5N3	۱۳۰۰ چلچله دریایی (<i>Sterna hirundo</i>)
A/بوقلمون/انگلستان/۶۳	H7N3	۲۹۰۰۰۰ بوقلمون مادر (<i>Meleagris gallopavo</i>)
A/بوقلمون/انتاریو/۶۶/۷۷۳۲	H5N9	۸۱۰۰ بوقلمون مادر
A/مرغ/ویکتوریا/۷۶	H7N7	۲۵۰۰۰ مرغ تخم‌گذار، ۱۷۰۰۰ جوجه مرغ گوشتی و ۱۶۰۰۰ اردک (<i>Anas platyrhynchos</i>)
A/مرغ/آلمان/۷۹	H7N7	مرغ و غاز، تعداد پرندگان درگیر نامشخص
A/بوقلمون/انگلستان/۷۹/۱۹۹	H7N7	۳ فارم بوقلمون (گوشتی)، تعداد کل پرنده‌های مبتلا گزارش نشده است.
A/مرغ/پنسیلوانیا/۸۳/۱۳۷۰	H5N2	۱۷ میلیون پرنده در قالب ۴۵۲ گله؛ بیشتر شامل مرغ و بوقلمون و تعدادی کبک هندی (<i>Alectoris chukar</i>) و مرغ شاخ‌دار (<i>Numida meleagris</i>)
A/بوقلمون/ایرلند/۸۳/۱۳۷۸	H5N8	۸۰۰ قطعه بوقلمون گوشتی در فارم مبدأ درگیری مردند، ۸۶۴۰ بوقلمون، ۲۸۰۲۰ مرغ و ۲۷۰۰۰۰ اردک در فارم مبدأ و دو فارم مجاور معدوم شدند.
A/مرغ/ویکتوریا/۸۵	H7N7	۲۴۰۰۰ مرغ مادر گوشتی، ۲۷۰۰۰ مرغ تخم‌گذار، ۶۹۰۰۰ جوجه مرغ گوشتی و ۱۱۸۵۱۸ جوجه با تیپ نامشخص.
A/بوقلمون/انگلستان/۹۲-۹۱/۵۰	H5N1	۸۰۰۰ بوقلمون
A/مرغ/ویکتوریا/۹۲	H7N3	۱۲۷۰۰ مرغ مادر گوشتی و ۵۷۰۰ اردک
A/مرغ/کویزلند/۹۵	H7N3	۲۲۰۰۰ مرغ تخم‌گذار
A/مرغ/یوپیلا/۹۴/۸۶۲۳-۶۰/۷	H5N2	مرغ (ب)
A/مرغ/پاکستان/۹۵/۴۴۷	H7N3	۳/۲ میلیون جوجه مرغ گوشتی و مرغ مادر گوشتی (ج)
A/مرغ/هنگ‌کنگ/۹۷/۲۲۰	H5N1	۱/۴ میلیون مرغ و تعداد متفاوت و کمتری از سایر پرندگان اهلی و پرورشی در تماس با مرغ‌ها در فارم‌ها و سیستم فروش پرندگان زنده.
A/مرغ/نیوساوت‌ولز/۹۷/۱۶۵۱	H7N4	۱۲۸۰۰۰ مرغ مادر گوشتی، ۳۳۰۰۰ جوجه مرغ گوشتی و ۲۶۱ شتر مرغ ایمو (<i>Dromaius novaehollandiae</i>)

ادامه در صفحه بعد

۱. مقدمه‌ای بر آنفلوآنزای طیور

جدول ۱ - ادامه

۹۷/۳۳۰/ایتالیا/ مرغ A	H5N2	۲۱۱۶ مرغ، ۱۵۰۱ بوقلمون، ۷۳۱ مرغ شاخ‌دار، ۲۳۲۲ اردک، ۲۰۴ بلدرچین، ۴۵ کبوتر، ۴۵ غاز و ۱ قرقاول.
۹۹/۴۵۸۰/ایتالیا/ بوقلمون A	H7N1	۴۱۳ فارم: ۸ میلیون مرغ تخم‌گذار، ۲/۷ میلیون بوقلمون مادر و گوشتی، ۱/۶ میلیون جوجه مرغ گوشتی و مادر گوشتی، ۲۴۷۰۰۰ مرغ شاخ‌دار، ۲۶۰۰۰۰ بلدرچین، اردک و قرقاول، ۱۷۰۰ طیور خانگی و ۳۸۷ شترمرغ.

الف. بیشتر همه‌گیری‌ها با سیاست شناسایی و معدوم‌سازی^۱ و یا حذف^۲ جمعیت‌های آلوده و یا جمعیت‌های در معرض آلودگی کنترل شدند. جوجه‌مرغ‌ها، بوقلمون‌ها و پرندگان راسته Galliformes، علائم کلینیکی و الگوهای مرگ‌ومیر منطبق با آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان را نشان دادند در حالی که در اردک‌ها، غازها و بقیه پرندگان تظاهرات کلینیکی گاه‌به‌گاه دیده می‌شد و مرگ و میر در آن‌ها کم بود.

ب. در این مورد سیاست شناسایی و معدوم‌سازی جهت کنترل استفاده نشد. شیوع آنفلوآنزا با انتشار همزمان سویه‌های کم‌حدت و پرحدت ویروس آنفلوآنزا بود. هرچند که سویه‌های ویروسی HPAI تنها از اواخر ۱۹۹۴ تا اواسط ۱۹۹۵ شناسایی شدند. تعداد پرندگان آلوده با سویه‌های HPAI در دسترس نیست، اما به خاطر شرایط تجاری ۳۶۰ گله طیور گوشتی در ۱۹۹۵ معدوم شدند.

ج. در این مورد سیاست شناسایی و معدوم‌سازی انجام نشد بلکه نظارت، قرنطینه، واکسیناسیون و تجارت کنترل‌شده اجرا شد و تعداد طیور درگیر به‌درستی مشخص نیست.

جدول ۲: آفتلورازی بسیار حاد پرندگان در ایتالیا (۱۹۹۹/۱۲/۱۷ تا ۲۰۰۰/۴/۵)

ناحیه	بوقلمون مادر	بوقلمون گوشتی	مرغ شاخ‌دار	بلدرچین، قرقاول، اردک، قرقاول	شترمرغ	جوجه مرغ گوشتی	مرغ تخم‌گذار	مرغ مادر گوشتی	گله‌های خانگی (Backyard Flocks)	تعداد
Veneto	۲	۱۰۲	۲	۱	۲	۱۴	۲۱	۸	۶	۱۵۸ ^a
Lombardia	۳	۷۲	۷	۴	۱	۲۵	۹۷	۲۱	۴	۲۲۴ ^b
Friuli Venezia Giulia	-	۳	-	-	-	-	۱	-	۱	۵
Piemonte	-	-	-	-	-	-	۱	-	۵	۶
Trentino	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	۱
Sicilia	-	-	-	-	-	-	-	-	۲	۲
Sardegna	-	-	-	-	-	-	۱	-	-	۱
Emilia Romagna	-	-	-	-	-	-	-	-	۵	۵
Umbria	-	-	-	-	-	-	-	-	۱	۱
تعداد کل همه‌گیری	۵	۱۷۷	۹	۵	۳	۴۹	۱۲۱	۲۹	۲۵	۴۱۳
تعداد کل حیوانات	۴۲۷۶	۲۶۹۲۹۱۷	۲۶۹۳۷۹	۲۶۰۳۴۰	۲۸۷	۱۶۲۵۶۲۸	۸۱۱۸۹۲۹	۷۴۳۳۱۹	۱۷۲۷	۱۳۷۳۲۹۱۲

a از این تعداد ۸ گله از نظر ویروس‌شناسی مثبت بودند.

b از این تعداد ۲۱ گله از نظر ویروس‌شناسی مثبت بودند.

همه گیری آنفلوآنزای پرندگان در ایتالیا در سال های ۲۰۰۰-۱۹۹۹

بیماری در مناطق Veneto و Lombardia اتفاق افتاد (جدول ۲) که ۶۵ درصد پرورش طیور صنعتی ایتالیا در این نواحی و به خصوص در استان های Verona، Vicenza، Mantova و Brescia (تصویر ۱۰۷) واقع می باشند.

وضعیت صنعت طیور در نواحی درگیر

در ۲۰ سال گذشته صنعت طیور ایتالیا به خصوص در این نواحی به شدت رشد و توسعه یافته و تراکم جمعیت طیور در این نواحی بالاست (۷۰ هزار پرنده در هر کیلومتر مربع به خصوص در شهرک های استان Verona). تعداد مرغداری ها و مؤسسات وابسته به آن در این منطقه به طور غیرمنطقی و بدون برنامه ریزی افزایش یافته و این ناحیه ممکن است به عنوان اولین و بزرگترین واحد اپیدمیولوژی مطرح باشد؛ به خصوص که یکسری عوامل محیطی و منطقه ای مانند فقدان موانع و سدهای فیزیکی طبیعی در منطقه و نیز عادت استفاده مشترک از تجهیزات و پرسنل بین مرغداری های منطقه باعث تشدید این موضوع شده است. به علاوه توسعه سیستم نیمه تجمعی^۱ (مانند ارائه کلیه خدمات و سرویس ها از جمله جوجه یکروزه و خوراک توسط یک شرکت خصوصی به مرغداری ها) باعث می شود وسایل نقلیه حمل خوراک، بدون دقت و تفکیک گونه پرنده تحت پرورش و نوع تولید، روزانه در بین تعداد زیادی مرغداری در رفت و آمد باشد. در این شرایط رعایت اصول بیوسکیوریتی^۲ عملاً غیرکارآمد خواهد بود.

به علاوه از آنجا که صنعت طیور این منطقه از لحاظ تنوع گونه های پرندگان پرورشی از قبیل جوجه مرغ گوشتی، بوقلمون، مرغ شاخ دار، بلدرچین، اردک، قرقاول و شترمرغ نیز بسیار پیشرفت کرده است، گستره پرورشی این گونه ها اغلب با یکدیگر هم پوشانی دارند و کارخانجات خوراک سازی و کشتارگاهی

1. Semi-vertical integration

2. Biosecurity

متعلق به یک شرکت غالباً به تعداد زیادی مرغداری سرویس می‌دهد.

آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان LPAI (۱۹۹۹/۱۲/۱۷-۱۹۹۹/۳/۲۹)

در ۲۹ مارس سال ۱۹۹۹ اولین مورد جداسازی ویروس آنفلوآنزای پرندگان تیپ A، تحت تیپ H7 به طور رسمی گزارش شد. طی یک هفته این ویروس براساس دستورالعمل EEC/۹۲/۴۰ اتحادیه اروپا به وسیله آزمایشگاه ویرج^۱ انگلستان به عنوان آزمایشگاه مرجع اتحادیه اروپا برای بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوآنزای پرندگان بررسی گردید و این چنین عنوان گشت که ویروس H7N1 فوق با ضریب بیماری‌زایی داخل وریدی صفر در جوجه‌های SPF با سن شش هفته و نیز توالی اسیدهای آمینه در محل شکافتگی مولکول هماگلوترینین PEIPKGR*GLF.. یک ویروس LPAI است زیرا دارای اسیدهای آمینه بازی متعدد نمی‌باشد (۲۲).

در طی دو هفته بعد ۶۳ همه‌گیری در گله‌های بوقلمون گوشتی بیشتر در جنوب شهر Verona گزارش شد که تقریباً ۳۵ درصد گله‌های بوقلمون گوشتی و همچنین یکی از بزرگ‌ترین کارخانجات جوجه‌کشی بوقلمون در اروپا با ظرفیت ۴۵۰ هزار جوجه در هفته در آنجا واقع است. بیماری در تعداد محدودی از مرغداری‌های استان Vicenza نیز مشاهده شد. همچنین عفونت در ناحیه Lombardia و بیشتر در استان‌های Mantova و Brescia دیده شد. مشکل اصلی در آن زمان به خصوص در درگیری گله‌های جوان بوقلمون میزان ضررهای اقتصادی حاصل از بیماری بود (۶). در حقیقت در بعضی از گله‌ها مرگ و میر تا ۹۰ درصد می‌رسید. مرغداران و شرکت‌های دامپزشکی به اصرار از آزمایشگاه ملی مرجع می‌خواستند تا با استعلام از کمیسیون اروپا امکان اخذ حمایت‌های مالی اتحادیه اروپا و نیز امکان استفاده از واکسن را بررسی کنند و بدین ترتیب اجازه دهند اقتصاد منطقه‌ای زنده بماند.

کمیسیون و اعضای اتحادیه از وضعیت بیماری و ضررهای اقتصادی حاصل از آن مطلع شدند و مشکلات صنعت طیور و مراجع دامپزشکی ایتالیا مورد بررسی قرار گرفت ولی متأسفانه در قانون رایج آن زمان راهی برای حمایت اعضای اتحادیه در ریشه‌کنی عفونت وجود نداشت و تنها تعریف آنفلوآنزای پرندگان در دستورالعمل EEC/۹۲/۴۰ عبارت بود از: یک عفونت در طیور که عامل آن یک ویروس آنفلوآنزای تیپ A با ضریب بیماری‌زایی داخل وریدی بیش از ۱/۲ در جوجه‌های شش هفته می‌باشد یا هر

عفونت حاصل از تحت‌تیپ‌های H5 و H7 و ویروس آنفلوآنزای تیپ A که توالی نوکلئوتیدی آن دارای اسیدهای آمینه بازی متعدد در محل شکافت هماگلوآنین باشد.

سویه‌های (H7N1) LPAI ایتالیا با هیچ یک از این معیارها تطابق نداشتند. بنابراین ریشه‌کشی بیماری نمی‌توانست تحت کمک‌های مالی اتحادیه اروپا قرار گیرد بلکه می‌بایست توسط مراجع دامپزشکی ایتالیا به انجام می‌رسید که بدون امکان جبران خسارت مالی، همکاری داوطلبانه مرغداران را برای اجرای سیاست شناسایی و معدوم‌سازی مشکل و ناممکن می‌ساخت. بنابراین بررسی وضعیت و تلاش برای محدود کردن همه‌گیری‌های جدید تنها با اعمال امنیت زیستی و بیوسکوریتی در سطح مرغداری‌ها و مؤسسات تابعه مقدور بود.

موضوع دیگری که مورد بحث قرار گرفت، استفاده از واکسن‌های همولوگ جهت کنترل بیماری آنفلوآنزا در سطح مزارع بود. کمیته علمی اتحادیه اروپا که در زمینه بهداشت و رفاه حیوانات فعالیت دارد در سند Sanco/B3/AH/R17/2000 و نیز در نسخه بازبینی شده آن در ۲۷ ژوئن ۲۰۰۰ توصیه می‌کند که واکسن برای کنترل این بیماری استفاده نشود زیرا انجام واکسیناسیون علیرغم محافظت پرندگان در مقابل بروز علائم بالینی و مرگ‌ومیر نمی‌تواند از تکثیر ویروس ممانعت کند. بنابراین از نقطه نظر بیولوژی، واکسیناسیون نمی‌تواند مانع از چرخش و موتاسیون ویروس گردد. در این شرایط مهار و سرکوب علائم بالینی باعث تداوم و بقاء بیشتر ویروس می‌گردد. نکته دیگری که توسط کارشناسان کمیته مطرح شد این بود که واکسیناسیون با یک واکسن H7 ممکن است باعث پوشاندن علائم کلینیکی در بیماری ناشی از ویروس‌های HPAI شود که بعداً تحت جهش‌های احتمالی به وجود خواهند آمد.

برای ممانعت از افزایش موارد جدید همه‌گیری مراجع دولتی منطقه‌ای قوانین محدودسازی وضع کردند. سیاست اصلی آن‌ها ممنوعیت حمل و نقل پرندگان آلوده، حمل فرآورده‌های کشتارگاهی، جوجه‌های مادر و نیز منع انتقال پرندگان مرده و بستر آلوده بود که به عنوان منابع اصلی آلودگی معرفی شده‌اند.

از طرف دیگر نزدیک شدن فصل گرما کمک بزرگی در جهت نیل به اهداف سیاست محدودسازی دولت بود به طوری که شیوع بیماری در طی ماه آگوست حداکثر ۶ مورد بود.

به‌خوبی مشخص شده است که ویروس آنفلوآنزا به شرایط گرم مقاوم نیست در حالی که در شرایط سرما مدت زمان بیشتری زنده می‌ماند. به طوری که با شروع فصل زمستان شیوع دوباره بیماری اتفاق افتاد و به ۱۹۹ مورد تا آخر ماه نوامبر رسید.

ظهور آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان HPAI (۲۰۰۰/۴/۵-۱۹۹۹/۱۲/۱۷)

در تاریخ ۱۳ دسامبر سال ۱۹۹۹ یک دامپزشک بخش خصوصی از یک گله بوقلمون گوشتی با مرگ و میر بالا و مشکوک به آنفلوآنزا نمونه‌ای اخذ و ارسال نمود. در تاریخ ۱۷ دسامبر آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان و جدایه H7N1 شناسایی شد و در طی آزمایشات تکنیکی ضریب بیماری‌زایی داخل وریدی آن برابر ۳ و توالی اسیدهای آمینه ناحیه هماگلوتنین آن به صورت PEIPKGSRRVRR*GLF... و شامل اسیدهای آمینه بازی متعدد خاص ویروس‌های HPAI تشخیص داده شد.

ریشه‌کشی بیماری به دو شرط موفق خواهد بود. اول این که بیماری در همان درگیری‌های اولیه، سریع شناسایی شود و دوم این که مراحل اجرای کار بر اساس دستورالعمل EEC/۹۲/۴۰ اتحادیه اروپا به موقع و سریع انجام شود. از آن‌جاکه در آن زمان تشخیص یک بیماری با تلفات بالا همراه با جداسازی ویروس H7 در گله‌های بوقلمون گوشتی غیرمعمول نبود^{*}، با مشاهده اولین موارد تلفات حضور یک ویروس HPAI بلافاصله مورد شک قرار نگرفت. در نتیجه اقدامات سریع ریشه‌کشی در مراحل اولیه اجرا نگردید و این امر باعث گسترش عفونت شد و بعدها از طریق پیگیری‌های اپیدمیولوژی در همه‌گیری‌های بعدی مشخص شد که حداقل ۱۶ گله قبل از ۱۷ دسامبر آلوده بوده‌اند. این واقعه حاکی از آن است که پخش و گسترش آلودگی قبل از اجرای تمهیدات محدودکننده اتفاق افتاده است و احتمالاً با تعداد زیاد پرندگان پرورشی کشتار شده قبل از فصل تعطیلات ارتباط مستقیم دارد. نقص در کنترل عفونت منجر به وقوع ۴۱۳ مورد واگیری بین تاریخ‌های ۱۹۹۹/۱۲/۱۷ و ۲۰۰۰/۴/۵ شد.

شیوع HPAI نسبت به LPAI افزایش یافت که اغلب با ۱۰۰٪ درگیری گله و ۱۰۰٪ مرگ و میر در بیشتر گله‌ها دیده می‌شد و بعد تمام گونه‌های پرندگان صنعتی و پرورشی درگیر شدند. بوقلمون، جوجه‌های گوشتی، مرغ شاخ‌دار اغلب در عرض چند روز صد درصد تلفات داشتند. علاوه بر پرندگان آبی که نسبت به HPAI مقاوم شناخته شده‌اند، بلدرچین و شتر مرغ نیز کمی مقاومت نشان دادند و علائم بالینی و مرگ و میر در آن‌ها محدود به پرندگان جوان بود (۸).

نتایج همه‌گیری‌های HPAI

همه‌گیری HPAI از جنوب استان‌های Verona و Mantova (مشابه همه‌گیری‌های LPAI)

*. یادداشت مترجمین: منظور LPAI است.

شروع شد و به سرعت به استان‌های مجاور مانند Padova، Vicenza و Brescia و Bergamo انتشار یافت و باعث مرگ بیش از سیزده میلیون پرنده شد (جدول ۲).

تحت اجبار اجرای سیاست شناسایی و معدوم‌سازی و کشتار پیش از موعد^۱ تأسیسات متعددی نظیر کارخانجات جوجه‌کشی، خوراک‌سازی، کشتارگاهی، بسته‌بندی و نیز کلیه مشاغل تابعه دست از فعالیت کشیدند. در نتیجه عده‌ای بیکار شدند و خسارات اقتصادی سنگینی به صنعت طیور و جامعه وارد آمد. ضررهای اقتصادی ناشی از عدم امکان صادرات محصولات از نواحی آلوده نیز به مشکلات فوق افزوده شد.

به خاطر وقوع بیماری در نواحی نزدیک به مناطق قبلی و اجبار به رعایت دستورالعمل EEC/۹۲/۴۰ اتحادیه اروپا درخصوص مناطق محافظت شده و مناطق تحت پیگیری و نظارت، امکان شروع دوباره فعالیت حتی در فارم‌های ضد عفونی و پاک شده قبلی وجود نداشت. بنابراین جوجه‌ریزی مجدد و بازگشت به شرایط نرمال با تأخیر مواجه شد.

به خاطر تراکم بالای مرغداری در منطقه، به عنوان تنها راه کسب اطمینان از عدم مواجه با بیماری طی جوجه‌ریزی دوباره، می‌بایست برای کاهش تراکم در منطقه تعدادی از واحدها را خالی نگه می‌داشتند که این امر به طور اجتناب‌ناپذیری باعث ضررهای اقتصادی بیشتر می‌شد.

نتیجه‌گیری

از همه‌گیری فوق‌الذکر چند نکته قابل دریافت است. از همه مهم‌تر این که مرغداران و شرکت‌های خصوصی دامپزشکی باید مدنظر داشته باشند که براساس قوانین موجود و جاری در رابطه با درگیری‌های LPAI هیچگونه کمک مالی از طرف سازمان‌های دولتی و شعب منطقه‌ای آن‌ها و یا اتحادیه اروپا وجود ندارد و برای این که سیاست شناسایی و معدوم‌سازی حتی در درگیری‌های بدون خسارات مالی زیاد به طور داوطلبانه قابل اجرا باشد، باید تشخیص و شناسایی عفونت‌های حاصل از HPAI به دقت و به سرعت انجام پذیرد. یکی از راه‌های نیل به این هدف اجرای مداوم برنامه‌های پیگیری و نظارت می‌باشد که در نتیجه آن شناسایی عوامل خطر و نقاط بحرانی در منطقه و در سیستم پرورشی ممکن می‌گردد. در آن زمان یعنی در سال ۱۹۹۹ در ایتالیا حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد گله‌های منطقه تحت تأثیر LPAI بودند و به همین دلیل به نظر

1. Pre-emptive

نمی‌آمد که اجرای سیاست شناسایی و معدوم‌سازی به طور داوطلبانه قابل اجرا باشد. این سیاست‌ها به رشد صنعت طیور در مناطق جغرافیایی متعدد در سراسر دنیا بدون تفکر در مورد امکان جداسازی و ایزوله کردن یک واحد پرورشی آلوده از کل سیستم پرورشی در منطقه صورت گرفته است. تمرکز واحدهای پرورشی طیور به همراه واحدهای جوجه‌کشی، کشتارگاهی، تأسیسات عمل‌آوری کود و سایر صنایع وابسته از نقطه نظر سازماندهی و سهولت کار در منطقه کاملاً مناسب می‌باشد ولی از لحاظ بهداشتی مشکلاتی را در پی دارد که در موارد وقوع همه‌گیری بیماری‌های سریع‌الانتشار به وضوح مشهود می‌گردد. در فقدان یک برنامه‌ریزی اصولی، سیستم‌های نیمه‌متمرکز کنونی نیز شرایطی همانند مناطق تحت تأثیر در ایتالیا خواهند داشت. در شرایط موجود با توجه به تراکم بالا در محدوده‌های جغرافیایی، باید تمام تلاش‌ها در جهت تشخیص سریع و کنترل LPAI به انجام برسد.

به عنوان نتیجه‌گیری از این همه‌گیری که طی آن ویروس LPAI حاصل از تحت‌تیپ H7 به وضوح به ویروس HPAI جهش‌یافته و آسیب‌های ذکرشده در فوق را باعث گشته است، باید سیاست کنترل آنفلوآنزای پرندگان در اتحادیه اروپا بازنگری شود و به نظر منطقی می‌آید که معیارهای کنترلی به کار گرفته شده باید با هدف ریشه‌کشی کلیه عفونت‌های حاصل از ویروس‌های تحت‌تیپ H5 و H7 بدون در نظر گرفتن حدت آن‌ها باشد. علاوه بر قابلیت جهش ویروس LPAI به HPAI حضور همزمان HPAI و LPAI در یک جمعیت، تفسیر نتایج حاصل از تشخیص را پیچیده می‌کند و در نتیجه باعث تأخیر در روند ریشه‌کشی می‌شود. در نهایت تجارت حاصل از همه‌گیری HPAI در ایتالیا نشان می‌دهد که کنترل این بیماری در نواحی پرتراکم و به خصوص در شرایطی که قبلاً عفونت LPAI در منطقه گسترش یافته است کار مشکلی می‌باشد؛ بنابراین برای اجتناب از وقوع وضعیت‌های مشابه باید سیستم پیشگیری اجرا گردد. علاوه بر تغییرات ساختاری در سیستم صنعتی در ارتباط با گستره آن، نظارت‌های دامپزشکی، قرنطینه و تجارت کنترل شده اقدامات بهداشتی و پیشگیرانه نیز الزامی می‌باشد. به علاوه آموزش مرغداران و کارکنان مرغداری در خصوص مفاهیم و اصول امنیت زیستی از مهم‌ترین اقدامات در جهت پیشگیری و ریشه‌کشی آنفلوآنزای پرندگان می‌باشد. این امر به عنوان اساس مدیریت در پرورش‌های متراکم طیور مطرح است.

اتیولوژی آنفلوآنزای پرندگان

ویروس‌های آنفلوآنزای پرندگان همگی متعلق به جنس آنفلوآنزاویروس A از خانواده ارتو-میکسوویریده می‌باشند. آن‌ها ویروس‌هایی پوشش‌دار حاوی RNA رشته‌ای با سنس منفی و ژنوم چندبخشی شامل ۸ ژن (PB1, PB2, PA, HA, NP, NA, MA و NS) می‌باشند. ذرات ویروس چندشکلی بوده اما معمولاً گرد و به قطر ۸۰ تا ۱۲۰ نانومتر می‌باشند ولی به شکل رشته‌ای هم دیده می‌شوند.

۸ ژن ویروس ۱۰ پروتئین را کد می‌کنند. ۳ تا از آن‌ها هم‌گلویتینین (HA)، نورآمینیداز (NA) و پروتئین ۲ ماتریکس (M2) هستند که بخشی از پوشش ویروس می‌باشند بنابراین در تحریک سیستم ایمنی میزبان نقش بسیار مهمی دارند. سایر پروتئین‌های داخلی مانند PA, PB1 و PB2 به عنوان پلی‌مرازهای ویروس عمل می‌کنند. پروتئین ماتریکس M1، پروتئین غیر ساختاری دیگر (NS2) و نوکلئوپروتئین (NP) بخش دیگری از ویروس کامل می‌باشند در حالی که پروتئین غیر ساختاری (NS1) که به مقدار زیادی در سلول آلوده ساخته می‌شود در ذرات ویرونی وارد نمی‌شوند (۱۷).

از نقطه‌نظر آنتی‌ژنیکی و براساس وجود و یا فقدان آنتی‌ژن‌های گروهی مشترک، ویروس آنفلوآنزا را می‌توان در سه تیپ (A, B, C) تقسیم‌بندی نمود. تمام ویروس‌های آنفلوآنزای پرندگان در تیپ A جای می‌گیرند. براساس یافته‌های موجود ویروس‌های A آنفلوآنزا براساس آنتی‌ژن هم‌گلویتینین (H) به ۱۵ تحت تیپ تقسیم می‌شوند. علاوه بر آنتی‌ژن H، هر ویروس آنفلوآنزا دارای یکی از ۹ آنتی‌ژن نورآمینیداز (N) نیز می‌باشد.*

تقریباً تمام انواع ترکیب‌های H و N از پرندگان جدا شده است. بنابراین انواع مختلف ترکیب‌های آنتی‌ژنیکی را در این عفونت می‌توان یافت. این ترکیب‌های جدید ژنتیکی ویروس در سلول‌های میزبان به وجود می‌آیند. در حقیقت قطعه قطعه بودن ژنوم باعث می‌شود که اگر در یک سلول عفونت‌های همزمانی با ویروس‌های مختلف وجود داشته باشد، ویروس‌های تشکیل یافته ممکن است حاصل از بازآرایی ژن‌های اولیه

*. یادداشت مترجمین: بر اساس گزارشات اخیر، تنوع تحت‌تیپی آنفلوآنزای پرندگان بر اساس آنتی‌ژن H از ۱۵ به ۱۶ (B) و بر اساس آنتی‌ژن N از ۹ به ۱۰ (C) افزایش یافته است.

ویروس‌های مختلف باشند. از لحاظ تئوری از دو ویروس والد، ۲۵۶ ترکیب مختلف می‌توان متصور بود.

مکانیسم حدت یا ویرولانسی

ویروس‌های آنفلوآنزا را می‌توان براساس حدت و شدت علائم بالینی قابل مشاهده در پرندگان حساس تقسیم‌بندی نمود. ویروس آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان (LPAI) ممکن است توسط ویروس‌های متعلق به همه ۱۵ تیپ هم‌گلویتینین (H1-H15)*^۱ به وجود آیند که در پرندگان حساس یک بیماری ملایم و ضعیف ایجاد می‌کنند و با علائم تنفسی و گوارشی و نیز مشکلات تولید تخم در گله‌های مادر و تخم‌گذار تجارته مشخص می‌شوند. بعضی اوقات ویروس LPAI را ویروس آنفلوآنزای پرندگان با حدت ملایم (MPAI) نیز می‌نامند. برعکس آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI) یک بیماری عمومی ویروسی با تلفات نزدیک به صد درصد در بسیاری از پرندگان gallinaceous می‌باشد (۱). هرچند این دو بیماری با هم در ارتباط هستند. براساس شواهد اپیدمیولوژی برگرفته از همه‌گیری‌های اخیر می‌توان گفت ویروس‌های LPAI متعلق به تحت‌تیپ‌های H5 و H7 مدتی بعد از ورود به گله‌های طیور ممکن است به دنبال جهش تبدیل به HPAI شوند (۱۱). به علاوه جهش تحت‌تیپ H5 و تبدیل آن از LPAI به HPAI در آزمایشگاه نیز انجام شده است (۱۸).

علائم بالینی HPAI تنها توسط تحت‌تیپ‌های H5 و H7 ایجاد می‌شود که در توالی نوکلئوتیدی مربوط به ناحیه شکافتگی ملکول پیش‌ساز هم‌گلویتینین دارای اسیدهای آمینه بازی متعدد هستند. شکافت مولکول پیش‌ساز هم‌گلویتینین برای عفونی شدن ذرات ویروس آنفلوآنزا لازم و ضروری می‌باشد و تعداد اسیدهای آمینه بازی در محل شکافتگی، انواع آنزیم‌های میزبانی مؤثر در این محل را تعیین می‌کند.

در حقیقت حضور اسیدهای آمینه بازی امکان شکافته شدن هم‌گلویتینین پیش‌ساز را توسط همه پروتئازهای میزبان و در همه بافت‌ها امکان‌پذیر می‌سازد، بنابراین تکثیر ویروس در همه قسمت‌های بدن میزبان از جمله اندام‌های حیاتی ممکن گشته و باعث مرگ پرنده می‌شود (۱۶). در مقابل ویروس LPAI در محل شکافت هم‌گلویتینین فاقد اسیدهای آمینه بازی متعدد است و باز شدن مولکول هم‌گلویتینین پیش‌ساز وابسته به حضور و عمل آنزیم‌های شبه تریپسینی می‌باشد. بنابراین تکثیر ویروس LPAI محدود به محل‌هایی است که آنزیم تریپسین و شبه تریپسین حضور دارند که عمدتاً اپی‌تلیوم روده و مجاری تنفسی می‌باشند (۱). مرغان آبی از این تئوری مستثنی هستند. مرغان آبی نه تنها به عنوان مخازن ویروس LPAI مطرح هستند بلکه نسبت به ویروس HPAI نیز مقاوم بوده و علائم کلینیکی نشان نمی‌دهند.

*. یادداشت مترجمین: ۱۶ تیپ هم‌گلویتینین (H1-H16)

یافته‌های میکروسکوپی، ماکروسکوپی

و علائم بالینی مشاهده شده طی اپیدمی ایتالیا

در سال‌های ۲۰۰۰-۱۹۹۹

بوقلمون (*Meleagris gallopavo*)

تصاویر ۱ تا ۳۱

آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان (LPAI)

بوقلمون‌های گوشتی

یافته‌های بالینی

در طی همه‌گیری LPAI ایتالیا گله‌های بوقلمون گوشتی به شدت تحت تأثیر قرار گرفتند. یافته‌های بالینی و علائم پس از مرگ به طور قابل ملاحظه‌ای متفاوت بودند. میزان تلفات از ۵ تا ۹۷ درصد متفاوت بود که در درجه اول به سن پرندگان و بعد به فاکتورهای محیطی از قبیل وضعیت ضد عفونی فارم، تهویه، درجه حرارت محیط و حضور سایر عوامل عفونی بستگی داشت.

در گله‌های آلوده به گونه‌های مایکوپلاسمایی علائم بالینی و میزان مرگ و میر شدیدتری مشاهده شد و یا عوامل باکتریایی تنفسی مثل *R. anatipestifer* و *P. multocida* یا *E. coli* که باعث عفونت‌های ثانویه می‌شدند و نیز در حضور عفونت‌های ویروسی مثل ویروس آنتریت هموراژیک (HEV)، پارامیکسو ویروس ۲ پرندگان (APMV2)، سوش‌های واکسینال نیوکاسل، آدنو ویروس‌ها و رتو ویروس‌ها مرگ و میر بیشتری دیده می‌شد.

به نظر می‌آمد شدت علائم بالینی و قدرت بهبود از بیماری وابسته به سن باشد. در پرندگان مسن‌تر (در سنین بالای ۴۰ روزگی) طی یک هفته از شروع علائم بالینی، وضعیت بالینی در بیشتر پرندگان بیمار بهتر می‌شد. در پرندگان جوان‌تر (تا سن ۴۰ روزگی) بیشتر درگیری‌های شدید تنفسی دیده می‌شد که با مرگ و میر ۴۰ تا ۹۷ درصدی همراه بود. پرندگان بهبود یافته از بیماری کاهش رشد نشان می‌دادند و به وزن مطلوب نمی‌رسیدند.

در علائم بالینی کسالت، پرهای ژولیده و نامرتب و بی‌میلی به حرکت دیده می‌شد (تصویر ۱) و نیز صدایی از بوقلمون‌ها به گوش نمی‌رسید. پرندگان کم‌تحرك بودند و پرندگان جوان‌تر زیر گرمای لامپ دور هم جمع می‌شدند. اشتها و دریافت غذا به شدت کاهش می‌یافت و کمی بعد از آن علائم تنفسی قابل مشاهده

بود. در حقیقت مشکلات تنفسی علائم بالینی غالب بودند و با خس خس و خُر خُر شروع شده و تبدیل به تنگی نفس شدید همراه با تورم سینوس‌های زیر چشمی و بافت ملتحمه چشم می‌شد (تصاویر ۲ و ۳). در بعضی موارد مشکلات تنفسی فوق‌العاده شدید بود که منجر به پارگی کیسه‌های هوایی و تجمع هوا در زیر پوست می‌گردید (تصویر ۴).

در بعضی گله‌ها به ویژه گله‌های جوان اسهال سبز یا زردرنگ همراه با غذای هضم نشده در مدفوع دیده می‌شد. این وضعیت عموماً همراه با افزایش تعداد تلفات بود در این حالات بهبود از بیماری مشکل و افزایش وزن بعد از بیماری کم بود.

یافته‌های پس از مرگ

در بالغین و نیز در پرندگان جوان در مشاهده جراحات پس از مرگ حضور توده‌های پنبه‌ای شکل در سینوس‌ها و در نای قابل توجه بود (تصویر ۵) که به نظر می‌آمد در بیشتر موارد علت مرگ خفگی ناشی از این توده‌ها بوده است. نای و ریه‌ها دچار احتباس خون بودند و در بعضی موارد در آن‌ها خون‌ریزی دیده می‌شد. در پرندگان بالغ درگیری کیسه‌های هوایی سینه‌ای و شکمی و فیبرینی شدن آن‌ها در نتیجه عفونت‌های ثانویه دیده می‌شد (تصویر ۶). طحال بزرگ و دچار احتباس خون بود (تصویر ۷).

پانکراس هم در پرندگان بالغ و هم در پرندگان جوان همیشه تحت تأثیر قرار می‌گرفت. البته در پرندگان جوان شدیدتر آسیب می‌دید. طحال با ظاهر بزرگ و سفت شده و اغلب دارای نواحی خون‌ریزی و نکروزه در سطح آن بود. در پرندگان بالغ طحال دچار احتباس خون همراه با نقاط خون‌ریزی در سطح آن به همراه احتباس خون در خم دئودنوم دیده می‌شد (تصویر ۹). در پرندگان بهبودیافته، اندازه طحال کوچک و آتروفی شده دیده می‌شد. در بعضی از موارد خون‌ریزی‌های پتشی روی اپی‌کاردیوم و لوزه‌های سکومی دیده می‌شد (تصویر ۱۰).

آسیب‌شناسی

در بوقلمون گوشتی، پانکراتیت شدید همراه با کانون‌های نکروزه در سلول‌های آسینی پانکراسی اتفاق می‌افتاد (تصویر ۱۱). گاهی گرانولوماهای متعدد در ریه و کبد دیده می‌شد.

کله‌های بوقلمون مادر

یافته‌های بالینی

کله‌هایی که به بلوغ جنسی نرسیده‌اند، علائمی شبیه به آنچه در کله گوشتی بالغ مشاهده می‌شد، نشان می‌دادند. البته عفونت‌های ثانویه با تناوب کمتری دیده می‌شد که احتمالاً در نتیجه شرایط محیطی بهداشتی تر بوده است. یک فرم ملایم‌تری از مشکلات تنفسی که در کله‌های گوشتی دیده می‌شد در کله‌های مادر بالغ جنسی نیز مشاهده می‌شد که همیشه شامل رال‌های تنفسی، سرفه، ادم صورت و تورم سینوس‌های زیر چشمی بود. مشکلات تنفسی همیشه همراه با بی‌حالی، بی‌میلی به حرکت و تب توأم با کاهش اشتها بود و دستگاه تنفسی توسط ویروس به شدت آسیب می‌دید.

در طی مرحله حاد بیماری، کاهش تولید تخم از ۳۰ تا ۸۰ درصد می‌رسید (تصاویر ۱۲ و ۱۳) ولی گاهی سه هفته بعد از شروع بیماری بهبود یافته و نزدیک به حد طبیعی برمی‌گشت. تعداد قابل توجهی از آن‌ها تولک می‌رفتند و در نتیجه فعالیت‌های تولیدمثل قطع می‌شد. کیفیت تخم کاهش می‌یافت و موارد بدشکلی، شکستگی و تخم‌های با پوسته سفید در طی افت تولید دیده می‌شد. مرگ و میر از ۵ تا ۲۰ درصد متغیر بود در حالی که درگیری کله‌ها تا صد درصد هم می‌رسید.

یافته‌های پس از مرگ

در بررسی‌های کالبدگشایی پس از مرگ در درجه اول آسیب‌های موجود در دستگاه تنفس و تولیدمثل جلب توجه می‌کرد. احتقان خون در نای، ریه، سینوس‌ها و ملتحمه چشم اغلب در کالبدگشایی دیده می‌شد و در کله‌های بالغ جنسی اغلب همراه با به اصطلاح پريتونیت‌های زرده تخمی بود و در نهایت احتباس خون در تخمدان و خون‌ریزی‌هایی در فولیکول‌های تخمدانی، احتباس خون و ادم اویدوکت با آگزودای پیری کاتارال همراه بود. زرده تخم رها شده در محوطه بطنی نیز دیده می‌شد (تصویر ۱۴).

آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI)

یافته‌های بالینی

در بوقلمون‌های گوشتی و کله‌های مادر ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از شروع اولین علائم بالینی صد درصد مرگ و میر دیده می‌شد (تصویر ۱۵).

کاهش فوق‌العاده شدید در مصرف غذا همراه با بی‌حالی و بعد از آن علائم عصبی شامل لرزش و

ناهماهنگی در عضلات حرکتی دیده می‌شد.

پرندگان علائمی از قبیل تکان‌های سر، فلجی بال‌ها (تصاویر ۱۶ و ۱۷)، راه رفتن غیرطبیعی، عدم توان در قائم ایستادن، از دست دادن تعادل و مردن در وضعیت افتاده به پهلوی یا پازدن‌های پدالی نشان می‌دادند. انقباضات اسپاسمی بال‌ها همراه با حرکات بال زدن و اوپی ستوتونوس^۱ به کرات دیده می‌شد. به خاطر انقباضات قبل از احتضار تعداد قابل توجهی از پرندگان در وضعیت خوابیده به پشت می‌مردند (تصاویر ۱۸ و ۱۹).

یافته‌های پس از مرگ

در کالبدگشایی، اندام‌های داخلی دچار احتباس خون بودند (تصویر ۲۰ و ۲۱). در بعضی پرندگان و در موارد فوق حاد بیماری هیچ علامتی در کالبدگشایی دیده نمی‌شد. گرچه پانکراتیت (تصاویر ۲۲ و ۲۳) به کرات دیده می‌شد. در کنار این یافته‌ها، گاهی طحال بزرگ و دچار احتباس خون دیده می‌شد (تصویر ۲۴). در لوزه‌های سکومی خون‌ریزی (تصویر ۲۵) و در اپی‌کاردیوم خون‌ریزی‌های نقطه‌ای دیده می‌شد. در معدودی از لاشه‌ها تجمع اورات در کلیه قابل مشاهده بود.

آسیب‌شناسی و ایمنوهیستوشیمی

یافته‌های آسیب‌شناسی ثبت شده در بوقلمون‌های گوشتی و بوقلمون‌های مادر شبیه به هم بودند. پانکراتیت شدید همراه با نکروز کانونی تا منتشر سلول‌های آسینی اساساً دیده می‌شد (تصویر ۲۶) و شدیدترین کانون‌های نکروزه توسط حلقه باریکی از سلول‌های التهابی در اطراف کانون احاطه می‌شد، ادم بینابینی پانکراس همراه با پریتونیت فیبرینی وجود داشت.

در آسیب‌های طحال نکروز فیبرینوئید دیواره رگ‌ها وجود داشت. در مغز و مخچه نکروزهای کانونی دیده می‌شد. التهاب لنفوسیتی در مشیمیه نیز مشاهده می‌گردید. نوکلئوپروتئین ویروس آنفلوآنزای پرندگان در اپی‌تلیوم آسینار نکروزه پانکراس، عصب و بافت‌های قلبی (تصاویر ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰) شناسایی شد. یک واکنش مثبت در سلول‌های اپاندیم و اپی‌تلیال شبکه کرونید^۲ دیده شد (تصویر ۳۱).



مرغ (*Gallus gallus*)

تصاویر ۳۲ تا ۶۰

آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان (LPAI)

جوجه مرغ‌های گوشتی و مرغ‌های مادر گوشتی

یافته‌های بالینی

در بیشتر گله‌های گوشتی، آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان باعث بروز علائم بالینی نمی‌شد. در معدودی از گله‌ها علائمی مثل بی‌اشتهایی و مشکلات تنفسی و گاهی تلفاتی در حد ۲ تا ۳ درصد دیده می‌شد. در زمره علائم بالینی، رال‌های تنفسی، خُرخر و سرفه‌های ملایم و در بعضی موارد تورم ملتحمه چشم قابل مشاهده بود. در یک مورد به خاطر شرایط بد محیطی و عفونت ثانویه تلفات تا ۲۰ درصد رسید. وضعیت مشابه در گله‌های مادر گوشتی جوان نیز مشاهده می‌شد.

در گله‌های مرغ مادر گوشتی بالغ جنسی یک وضعیت تب همراه با بی‌حالی، چرت زدن و کاهش اشتها و بعد از آن یک کاهش ۵ تا ۲۰ درصدی در تولید تخم مرغ وجود داشت. در طی این مرحله سیاه شدن تاج و ریش در تعداد معدودی از پرندگان و نیز علائم تنفسی خفیف قابل مشاهده بود. صد درصد گله درگیر می‌شدند در حالی که تلفات بین ۳ تا ۸ درصد بود. در طی دوره حاد بیماری، تخم مرغ‌های با پوسته سفید و بدشکل به تعداد قابل توجهی دیده می‌شد.

یافته‌های پس از مرگ

در جوجه مرغ‌های گوشتی و مرغ‌های مادر گوشتی جوان جراحات کالبدگشایی قابل توجهی وجود نداشت و یا بسیار خفیف و محدود به احتقان خون در نای و ریه و گاهی همراه با تراکمیت کاتارال بود. در گله‌های مادر بالغ جنسی یافته‌های پاتولوژی به طور مشخص محدود به تخمدان و اویدوکت بود. فولیکول‌های تخمدانی ادماتوز و هموراژیک بودند و به‌تناوب دچار استحالهِ آبکی^۱ می‌بودند و احتباس

خون و ادم در اویدوکت نیز به کرات دیده می‌شد.

پریتونیت کاتارال یا فیبرینی حاصل از زرده تخم و اغلب همراه با فولیکول‌های تخمدانی پاره شده وجود داشت (تصویر ۳۲). تنها علامت غالب قابل مشاهده احتقان خون در ریه‌ها و نای و در بعضی موارد همراه با ادم ریوی بود. گاهی اوقات خون‌ریزی‌های نقطه‌ای روی اپی‌کاردیوم، کبد و سروز روده قابل ردیابی بود.

کله‌های تخم‌گذار تجاری

یافته‌های بالینی

همه‌گیری در مرغ‌های تخم‌گذار تجاری خفیف‌تر از مرغ‌های مادر گوشتی مشاهده می‌شد و به‌علاوه در سیستم تنفس علائم بالینی به‌کندی انتشار می‌یافت. علائم بالینی تنها در ۱۰ تا ۲۰ درصد پرندگان دیده شد و با علائم اولیه شامل کاهش اشتها، بی‌حالی، همراه با نشانه‌های خفیف تنفسی و پرخونی تاج و ریش بود. به دنبال این رفتار بالینی اولیه، کاهش تولید تخم‌مرغ از ۲ تا ۱۰ درصد اتفاق می‌افتاد. در بعضی موارد کاهش تولید تخم‌مرغ به ۳۰ درصد هم می‌رسید. تلفات هرگز به ۵ درصد نرسید و عموماً بین ۵/۰ تا ۲ درصد بود. بهبود بیماری و حصول شرایط طبیعی قبل از وقوع بیماری در مواردی دیده شد در حالی که تولید تخم‌مرغ در بیشتر گله‌ها به ۹۰ درصد میزان قابل قبول بازگشت (تصویر ۳۳). کیفیت تخم و پوست آن تغییر نمی‌کرد.

یافته‌های پس از مرگ

ضایعات ماکروسکوپی اساساً در اندام‌های تولیدمثل و حفره سینه‌ای - شکمی دیده می‌شد. تخمدان و اویدوکت ادماتوز و هموراژیک بودند و اویدوکت‌ها حاوی آگزودای کاتارال و توده‌های فیبرینی بودند که اغلب با پریتونیت زرده و پریتونیت فیبرینی و ثانویه همراه بود. ریه‌ها و نای پر خون بودند. گاهی یک پانکراتیت خفیف دیده می‌شد.

آسیب‌شناسی

احتباس خون شدید و گاهی ادم پارانشیم در ریه قابل مشاهده بود. اپی‌تلیوم نای و لایه زیر مخاطی آن دارای احتباس خون بود و در بعضی موارد آگزودای سروفیبرینی حاوی سلول‌های اپی‌تلیال و به‌ندرت

۵. مرغ (*Gallus gallus*)

هتروفیل‌ها در حاشیه اپی‌تلیوم به صورت نواری دیده می‌شدند. دیواره ایدوکت به نظر ضخیم‌تر می‌آمد که به خاطر ادم و اندکی ارتشاح منتشر هتروفیل‌ها در داخل اپی‌تلیوم بود و هتروفیل‌ها گاهی در داخل مجرای تخم‌پر دیده می‌شدند.

آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI)

پرورش روی بستر

(در گله‌های مرغ مادر گوشتی، جوجه مرغ گوشتی و مرغ‌های تخم‌گذار روی بستر)

یافته‌های بالینی

در پرورش روی بستر ۴۸ تا ۹۶ ساعت پس از شروع اولین علائم، تلفات به ۱۰۰ درصد می‌رسید. علائمی از قبیل بی‌اشتهایی، کسالت، توقف تولید تخم دیده می‌شد و به دنبال آن عدم تمایل به حرکت و لرزش در سردیده می‌شد. فلجی بال‌ها و ناهماهنگی در پاها و راه رفتن در زمان تحریک به حرکت دیده می‌شد. در تعداد معدودی از گله‌های مرغ مادر گوشتی، سیانوزه شدن تاج و ریش و خون‌ریزی‌های پتشی روی مفصل خرگوشی قابل مشاهده بود (تصاویر ۳۴ و ۳۵) مرغ در حالت خوابیده به پهلوی با حرکات پدالی پاها و بلع هوا اتفاق می‌افتاد. در یک مورد وقوع بیماری HPAI که در یک گله مرغ مادر گوشتی اتفاق افتاده بود تعداد محدودی از پرندگان زنده ماندند. این پرندگان به وضعیت سلامت قبل از بیماری برنگشتند و احتقان خونی شدید تاج، ادم اطراف چشم، پره‌های سیخ شده و راه رفتن‌های غیرطبیعی را نشان می‌دادند (تصاویر ۳۶ و ۳۷).

مرغ‌های تخم‌گذار داخل قفس

در تخم‌گذارهای داخل قفس بیماری خیلی به کندی در گله منتشر می‌شد. در ابتدا ممکن بود کسالت شدید یا تلفات تنها در یک پرنده در هر قفس و در یک گوشه از سالن دیده شود (تصویر ۳۸) و به کندی به قفس‌های مجاور انتشار یابد. عموماً ۱۰ تا ۱۴ روز بعد بیماری به آخر سالن انتشار می‌یافت. تفاوت سرعت انتشار بین سیستم قفس و سیستم روی بستر احتمالاً به خاطر تماس بیشتر پرندگان با مدفوع آلوده می‌باشد. در یک مرغداری دوره نهفته بیماری ۱۸ روز تعیین گردید.

یافته‌های بالینی

علائم بالینی با خمودگی، چرت زدن و توقف تولید تخم مرغ و توقف دریافت غذا مشخص می‌شد.

تاج در بعضی موارد سیانوزه بود ولی در بعضی موارد رنگ پریده و شل و وارفته بود (تصاویر ۳۹ و ۴۰). خونریزی‌های روی مفصل خرگوشی نیز قابل مشاهده بود. در تعداد محدودی از پرندگان بلع هوا همراه با لرزش سر دیده می‌شد. در صورت خارج کردن این پرندگان از قفس، آن‌ها بی‌تحرك بودند و از محوطه دهانی مایع سروزی زرد متمایل به سبز خارج می‌شد (تصویر ۴۱). کیفیت پوسته تخم‌مرغ تحت تأثیر قرار می‌گرفت، تخم‌مرغ‌ها شکننده و سفید می‌شدند که احتمالاً با کاهش مصرف غذا در ارتباط بود. تعداد تخم‌مرغ حاصل از گله به دلیل تلفات بالا به شدت کاهش می‌یافت (تصویر ۴۲).

یافته‌های پس از مرگ

در بررسی‌های پس از مرگ، ضایعاتی که در تمام پرندگان فوق‌الذکر به طور عموم مشاهده شد، پانکراتیت بود (تصاویر ۴۳، ۴۴، ۴۵). ظاهر پانکراس بزرگ شده، سخت و هموراژیک بود. در بعضی از پرندگان کانون‌های نکروتیک در سطح پانکراس قابل مشاهده بود. در کنار این یافته‌ها گاهی اوقات طحال بزرگ شده و کانون‌های نکروزه در سطح آن دیده می‌شد (تصویر ۴۶)، لوزه‌های سکومی هموراژیک بودند (تصویر ۴۷)، خونریزی‌های پتشی روی اپی‌کاردیوم (تصویر ۴۸)، روی چربی‌های محوطه شکمی (تصویر ۴۹ و ۵۰) و گاهی در ماهیچه‌ها (تصویر ۵۱) قابل مشاهده بود. اندام‌های داخلی دچار احتباس خون بودند و در تعدادی از موارد تجمع اورات در کلیه دیده می‌شد (تصویر ۵۲).

آسیب‌شناسی و ایمنو‌هیستوشیمی

لوزالمعده اندامی است که در اثر تکثیر ویروس آسیب عمده‌ای می‌بیند که با نکروز کانونی و یا منتشر سلول‌های آسینی مشخص می‌شد. گاهی ادم بینابینی پانکراس همراه با پری‌تونیت فیبرینی قابل مشاهده بود. ریه و نای دچار احتباس خون بودند و نهایتاً خون‌ریزی در زیر موکوس نمایان بود. نکروز فیبرینی علامت غالبی بود که در طحال دیده می‌شد در حالی که در مغز و منخچه کانون‌های نکروزه مشخص بود. در هیستوپاتولوژی آسیب‌های التهابی و دژنراسیون در ملتحمه چشم، اعصاب چشمی و عنبیه قابل مشاهده بود (تصاویر ۵۳، ۵۴، ۵۵).

در مرغان مادر گوشتی که از بیماری جان سالم بدر می‌بردند، منگوآنسفالیت لنفوسیتی^۱ خفیف تا

1. Lymphocytic meningoencephalitis

متوسط همراه با تجمع آستینی لنفی اطراف عروق در CNS قابل مشاهده بود (تصویر ۵۶).
نوکلئوپروتئین ویروس آنفلوآنزای پرندگان در اپی تلیوم آسینار نکروزه پانکراس، در نرون‌های
تکی (تصویر ۵۷) و نیز در سلول‌های اپاندیم مغز و در گله‌های مادر بالغ جنسی در تخمدان‌ها، اویدوکت و
بیضه‌ها (تصاویر ۵۸، ۵۹، ۶۰) قابل ردیابی بود. این پروتئین همچنین در سلول‌های تکی منتر و اپاندیم در
مرغان مادر گوشتی بهبود یافته از بیماری که در آن‌ها نتیجه آزمایشات ایمنوهیستوشیمی به روی تجمعات
آستینی اطراف عروقی منفی بود قابل ردیابی می‌بود.



شتر مرغ (*Struthio camelus*)

تصاویر ۶۱ تا ۷۸

در طی اپیدمی ایتالیا در سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۰، سه گله شتر مرغ نیز درگیر شدند که به نظر می‌آمد اولین گزارش وقوع بیماری HPAI در شتر مرغ باشد. به خاطر مشابهت یافته‌های بالینی و پاتولوژی قابل مشاهده در درگیری شتر مرغ با آنفلوآنزای کم‌حدت LPAI و یافته‌های قابل مشاهده در درگیری با آنفلوآنزای بسیار حاد HPAI (۴ و ۱۲)، براساس مقالات موجود خلاصه کوتاهی در این کتاب در مورد عفونت طبیعی با LPAI در این پرندگان گزارش می‌شود.

آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان (LPAI)

اولین جدایه‌های ویروس LPAI در شتر مرغ از تحت تیپ H7N1 بود که به عنوان عامل همه‌گیری شتر مرغ در آفریقای جنوبی در سال ۱۹۹۱ مطرح بود و موجب مرگ و میر در پرندگان جوان شده بود (۴). در سال ۱۹۹۴ ویروس H5N9 آنفلوآنزا از شتر مرغ‌های آفریقای جنوبی جداسازی شد و همچنین در هلند از ایموها^۱ و کاسواری‌هایی^۲ که در مبدأ ورود به آمریکا به دلیل جداسازی ویروس H5N9 از سوآب‌های اخذ شده از کلوآک‌شان مطابق برنامه معمول نمونه‌برداری، عودت داده شده بودند (۱۳).

در زیمبابوه در سال‌های ۱۹۹۵ تا ۱۹۹۶ تحت تیپ H5N2 از شتر مرغ جدا شد و نیز از شتر مرغ‌های وارداتی به هلند و دانمارک در سال ۱۹۹۶ نیز ویروس H5N2 جدا شد. در دانمارک جداسازی با مرگ و میر (۱۴۶ از ۵۰۶) طی ۲۳ روز از زمان واردات همراه بود، هرچند ویروس جدا شده برای ماکیان کم‌حدت بود (۱۲). براساس اطلاعات به دست آمده از Allwright و همکاران (۴) و Jorgensen و همکاران (۱۲) به نظر می‌آید که شتر مرغ‌ها کاملاً به ویروس آنفلوآنزای LPAI حساس هستند. به علاوه در موارد مشاهده شده توسط Jorgensen و همکاران (۱۲) و Allwright و همکاران (۴) یافته‌های پس از مرگ مشابه بودند و

1. Emus

2. Cassowary

نکروز کبد و انتريت هموراژیک مهم‌ترین و معمول‌ترین نشانه بوده است. این یافته‌ها همچنین در همه‌گیری HPAI ایتالیا نیز مشاهده شده بود.

سایر جدایه‌های آنفلوآنزای پرندگان شامل جداسازی ویروس H9N2 از شترمرغ‌های آفریقای جنوبی در سال ۱۹۹۵ و جداسازی ویروس آنفلوآنزا از ریاها^۱ (پرنده بومی آمریکای جنوبی از راسته Rheiformes) و ایموها (پرندگان درشت و بی‌پرواز بومی استرالیا از تیره Dromaiidae) در ایالات متحده آمریکا بوده است.

Panigrahy و Senne (۱۴)، تحت‌تیپ‌های جدا شده از این نوع پرنده‌ها را بدین ترتیب لیست کرده‌اند. H3N2 در سال ۱۹۹۲؛ H4N2، H5N2 و H7N1 در سال ۱۹۹۳؛ H4N6، H5N9 و H10N4 در سال ۱۹۹۴؛ H7N3 در سال ۱۹۹۵؛ و H7N3 و H10N7 در سال ۱۹۹۶. همه این‌ها از لحاظ حدت برای مرغ‌ها کم‌حدت بودند.

آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI)

یافته‌های بالینی

علائم بالینی تنها در پرنده‌های جوان (۹-۷ ماهه) قابل رؤیت بود. اولین نشانه‌های بالینی قابل مشاهده شامل بی‌اشتهایی و کسالت بود و فقط در تعداد کمی از پرندگان جوان دیده می‌شد. مصرف غذا کاهش می‌یافت و پرندگان کسل و خواب‌آلود به نظر می‌رسیدند. در طی ۲ روز بعد تعداد قابل توجهی از پرندگان جوان مبتلا شدند و علائم نشان دادند ولی بالغین در کل دوره سالم به نظر می‌آمدند. علائم بالینی معمول به غیر از کسالت و بی‌اشتهایی، شامل ظاهر متورم گلو و گردن همراه با علائم عصبی مانند ناهماهنگی عضلات، گردن کجی، فلجی بال‌ها (تصاویر ۶۱ و ۶۲) و لرزش سر و گردن بود. ظاهر ادرار به رنگ سبز درخشان (تصویر ۶۳) و پر از اورات بود و مدفوع خونی بود (تصویر ۶۴). در فاز پیش از احتضار، پرندگان روی زمین خوابیده و مایع موکوسی سبز رنگی از محوطه دهانی‌شان خارج می‌شد (تصویر ۶۵). بعد از شروع علائم بالینی، حداکثر حدود ۳۰ درصد از پرندگانی که علائم بالینی نشان می‌دادند می‌مردند و بقیه پرندگان طی یک هفته از شروع علائم بالینی بهبود یافته و به حالت اولیه باز می‌گشتند. هیچگونه علائم بالینی در مادرها دیده نمی‌شد.

یافته‌های پس از مرگ: سندرم خونی و هموراژیک

در کالبدگشایی پس از مرگ، ادم سر و قسمت‌های بالای گردن دیده می‌شد. در محوطه دهانی و مری یک مایع موکوسی سبز صفراوی وجود داشت که در قسمت اول روده نیز دیده می‌شد. در سایر قسمت‌های روده آنتریت هموراژیک وجود داشت و مجرای روده شامل اگزودای هموراژیک (تصویر ۶۶) و دلمه‌های خونی بود. در سروز روده‌ای، ادم و هموراژی نقطه‌ای در سطح آن (تصویر ۶۷) دیده می‌شد. در تعدادی از پرندگان پانکراس هموراژیک، بزرگ و سفت (تصویر ۶۸) دیده می‌شد. کبد نیز بزرگ با لبه‌های گرد شده و در سطح آن نواحی نامرتب تاریک و روشن دیده می‌شد (تصویر ۶۹)، کلیه‌ها بزرگ، شکننده و حاوی تجمعات اورات بودند. طحال نیز بزرگ بود. در ریه و نای احتباس خون و بر روی اپی‌کاردیوم خون‌ریزی‌های پتشی وجود داشت (تصویر ۷۰).

آسیب‌شناسی و ایمنوهیستوشیمی

نکروز انعقادی کانونی تا منتشر در طحال، کلیه و کبد قابل ردیابی بود. التهاب و نکروز فیبرینی سرخرگ‌های کوچک در طحال (تصویر ۷۱) و در مغز (تصویر ۷۲) دائماً دیده می‌شد. در تعداد معدودی از پرندگان پانکراس تحت تأثیر قرار گرفته و در بعضی موارد نکروز انعقادی کانونی سلول‌های آسینی (تصویر ۷۳) نفوذ محدود تک‌هسته‌ای و فیبروز ملایم تا شدید با تعدادی لبول گرد شده کوچک و به نظر فشرده و آتروفی شده در اطراف آن دیده می‌شد. در مقطع مغز و مخچه کانون‌های مالاسی^۱ و نورونوفاژی^۲ (تصویر ۷۴) دیده می‌شد. التهاب لنفوسیتی کوروئید مغز نیز وجود داشت. ضایعات خون‌ریزی و نکروتیک در روده وجود داشت. نوکلئوپروتئین ویروس تیپ A آنفلوانزای پرندگان با روش ایمنوهیستوشیمی در کلیه، مغز و مخچه (تصاویر ۷۵، ۷۶ و ۷۷) و در شبکه کروئید (تصویر ۷۸) قابل ردیابی بود.

توضیح

نشانه‌های بالینی و علائم بعد از مرگ مشاهده شده در این همه‌گیری مشابه علائمی بود که قبلاً توسط Allwright و همکاران (۴) و Jorgensen و همکاران (۱۲) گزارش شده بود گرچه هر دو جدایه‌ها (به ترتیب H7N1 و H5N2) به عنوان سویه‌های کم‌حدت (LPAI) مشخص شده بودند. بر اساس این

یافته‌ها احتمالاً می‌توان گفت عملکرد ویروس‌های HPAI در شترمرغ متفاوت از عملکرد ویروس‌های LPAI نیست بنابراین آزمایش ضریب بیماری‌زایی داخل وریدی در جوجه‌مرغ‌های SPF تست قابل بسطی برای تمام گونه‌های پرندگان نیست.

در این مطالعه، ویروس‌های HPAI و LPAI در شترمرغ‌ها با استفاده از روش‌های مختلف تشخیصی شناسایی شدند. نتایج نشان داد که ویروس‌های HPAI در شترمرغ‌ها با استفاده از روش‌های مختلف تشخیصی شناسایی شدند. نتایج نشان داد که ویروس‌های HPAI در شترمرغ‌ها با استفاده از روش‌های مختلف تشخیصی شناسایی شدند. نتایج نشان داد که ویروس‌های HPAI در شترمرغ‌ها با استفاده از روش‌های مختلف تشخیصی شناسایی شدند.

پیشینه و اهمیت مطالعه

آنفلوآنزای پرندگان یک بیماری ویروسی است که می‌تواند باعث مرگ و میر گله‌ها شود. این بیماری توسط ویروس‌های آنفلوآنزا ایجاد می‌شود. در سال‌های اخیر، شیوع این بیماری در پرندگان افزایش یافته است. این مطالعه به منظور شناسایی ویروس‌های آنفلوآنزا در شترمرغ‌ها انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که ویروس‌های HPAI و LPAI در شترمرغ‌ها شناسایی شدند. این یافته‌ها می‌تواند به درک بهتر شیوع و پخش این بیماری کمک کند.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که ویروس‌های HPAI و LPAI در شترمرغ‌ها شناسایی شدند. این یافته‌ها می‌تواند به درک بهتر شیوع و پخش این بیماری کمک کند. نتایج این مطالعه نشان داد که ویروس‌های HPAI و LPAI در شترمرغ‌ها شناسایی شدند. این یافته‌ها می‌تواند به درک بهتر شیوع و پخش این بیماری کمک کند.



مرغ شاخ‌دار (*Numida meleagris*)

تصاویر ۷۹ تا ۸۰

آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان (LPAI)

در مرغ شاخ‌دار پرورشی علائم تنفسی همانند آنچه در بوقلمون گوشتی شرح داده شد، وجود داشت. ادم صورت به عنوان یک علامت مشخص و همیشگی و گاهی همراه با علائم عصبی اوپی ستوتونوس، کج‌گردنی و فلجی بال‌ها دیده می‌شد و در بعضی موارد تلفات به ۳۰ درصد می‌رسید. LPAI در مرغان شاخ‌دار مادر شبیه به بوقلمون‌های مادر بود. بی‌حالی و مشکلات تنفسی شامل رال تنفسی و خُر خُر و در ادامه کاهش تولید تخم دیده می‌شد. تورم شدید ملتحمه علامت همیشگی بود که اغلب همراه با عفونت ثانویه دیده می‌شد. در علائم کالبدگشایی پس از مرگ، احتقان خون در اندام‌های داخلی و پریتونیت زرده تخم در مولدها دیده می‌شد. پانکراتیت، التهاب دئودونوم و تورم کیسه‌های هوایی هم در مادرها و هم در جوجه‌ها دیده می‌شد.

آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI)

مرغ شاخ‌دار بسیار حساس به HPAI بود و در طی ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد از شروع اولین علائم بالینی تلفات ۱۰۰ درصدی داشت. در تعداد معدودی از آن‌ها بی‌اشتهایی و کسالت و به دنبال آن علائم عصبی دیده می‌شد.

در علائم کالبدگشایی و پس از مرگ احتقان خون در اندام‌های داخلی به طور معمول مشاهده می‌شد که در بعضی موارد با ادم ریوی (تصویر ۷۹) همراه بود. در تعداد قابل توجهی از پرندگان پانکراتیت کانونی وجود داشت (تصویر ۸۰).



بلدرچین ژاپنی (*Coturnix coturnix japonica*)

تصاویر ۸۱ تا ۸۳

آنفلوآنزای کم‌حدت پرندگان (LPAI)

تنها علائم بالینی قابل مشاهده تورم ملتحمه و علائم تنفسی ملایم شامل عطسه و ترشحات شفاف بینی بود. در طی این مرحله که ۴ تا ۶ روز ادامه داشت، خوراک کاملاً متوقف می‌شد. علامت کالبدگشایی مشخصی به غیر از احتباس خون در لوله تنفسی و پانکراس وجود نداشت.

آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI)

آنفلوآنزای بسیار حاد با مشکلات شدید تنفسی شروع می‌شد و طی دو روز بعد تابلوی بالینی شامل علائمی مثل خمودگی، خواب‌آلودگی، سستی و بی‌حالی، اسهال سفید رنگ و بلع هوا قبل از مرگ قابل مشاهده بود.

علائم عصبی مثل اوپی‌ستوتونوس و گردن‌کجی قبل از مرگ وجود داشت. در مادرها فعالیت تولیدمثلی و تولید تخم طی چند روز پس از شروع اولین علائم بالینی به کلی و به سرعت قطع می‌شد. تلفات به طور معمول دیده می‌شد و روزانه تقریباً به ۵ درصد می‌رسید.

در کالبدگشایی پس از مرگ، تنها علامت قابل مشاهده احتباس خون در امعاء و احشاء، انتریت، پریتونیت زرده تخم و پانکراتیت همراه با خون‌ریزی (تصویر ۸۱) بود. پره‌ای اطراف کلوآک اغلب آغشته به مواد مدفوعی سفید و سبز رنگ بود.

از لحاظ آسیب‌شناسی، جراحات خفیف دژنراتیو در سلول‌های آسینی پانکراس قابل مشاهده بود. این علائم همراه با یک واکنش مثبت ایمنوهیستوشیمی در مقابل نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در هسته و سیتوپلاسم سلول‌های آسینی پانکراس بود (تصویر ۸۲). چنین واکنش‌هایی در اعصاب مغز نیز قابل ردیابی بود (تصویر ۸۳).



اردک مسکوی (*Cairina moschata*)

غازهای اهلی (*Anser anser var. domestica*)

تصاویر ۸۴ تا ۸۸

آنفلوآنزای بسیار حاد پرندگان (HPAI)

در میان کل ۴۱۳ مورد وقوع HPAI در ایتالیا طی سال‌های ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۰، ۲۵ گله پرورش خانگی درگیر شدند. عموماً این گله‌ها شامل گونه‌های مختلف پرندگان از قبیل مرغ، بوقلمون، مرغ شاخ‌دار، طاووس، اردک و غاز بود. در طی بازرسی‌های دامپزشکی، در موارد بسیار زیادی مرگ و میر بالایی در انواع گونه‌های پرندگان دیده می‌شد به استثناء گونه‌های پرندگان آبی که نشان‌دهنده مقاومت این گونه‌ها به HPAI می‌باشد.

به هر حال در درگیری در استان Padova دو غاز اهلی (*Anser anser var. domestica*) و نیز دو اردک مسکوی (*Cairina moschata*) تلف شدند. نتایج بالینی، مشاهدات کالبدگشایی و هیستوپاتولوژی طی بررسی موارد فوق به شرح ذیل گزارش شد.

یافته‌های بالینی

طی بازرسی‌های دامپزشکی انجام شده از ۳۵ پرنده، ۱۵ پرنده (شامل مرغ، بوقلمون، طاووس و اردک) در هفته اول مرده بودند و در موقع بازرسی دو مورد غاز و یک مورد اردک مسکوی مرده نیز یافت شدند. یک اردک مسکوی دیگر که علائمی از قبیل عدم تعادل در حرکت و لرزش نشان می‌دادند به روش بی‌درد کشته و تحویل بازرسان شد.

یافته‌های پس از مرگ

در کالبدگشایی هر دو غاز جراحی در پانکراس نشان دادند. به‌ویژه در یکی از آن‌ها پانکراس بزرگ، سفت و به رنگ زرد درآمده بود و ظاهر آن کف‌آلود به نظر می‌رسید و دارای وزیکول‌های کوچک

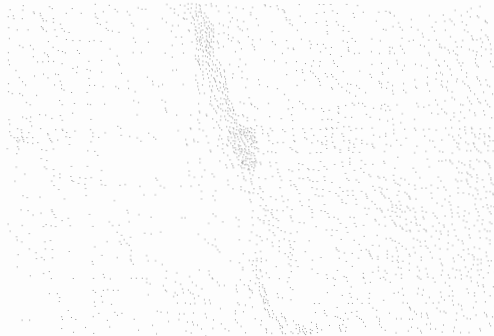
گرد خاکستری رنگ بود (تصویر ۸۴).

دثودنوم دچار احتباس خون و حاوی مواد خون‌آلوده در درون آن بود. اندازه طحال کوچک شده و التهاب در پیش‌معه دیده می‌شد. قلب نیز بزرگ و دارای احتباس خون بود. هیچ ضایعه دیگری در هیچ یک از اندام‌های دیگر مشاهده نشد و جراحاتی در کالبدگشایی دو اردک مسکوی وجود نداشت.

در آزمایشات آسیب‌شناسی، تعداد معدودی کانون‌های نکروزه در سلول‌های آسینار پانکراس‌ها و وجود داشت که به میزان کمتری در اردک‌های مسکوی نیز دیده شد. التهاب هموراژیک ملایم دثودنوم در هر دو غاز و نیز در اردک‌های مسکوی دیده شد. در حالی که نکروز لوزه‌های سکومی تنها در غازها مشاهده شد که همراه با احتباس خون، دژنراسیون خفیف و کانون‌های گرانولومایی در کبد بود.

آنسفالیت لنفوسیتی خفیف تا متوسط با آستینی شدن اطراف عروق خونی در مغز غاز و اردک‌های مسکوی مشاهده شد (تصویر ۸۵). واکنش مثبت ایمنوهیستوشیمی خفیف در برابر آنتی‌ژن نوکلئوپروتئین ویروس در سلول‌های آسینی پانکراس‌ها قابل ردیابی بود (تصویر ۸۶).

به طور مشابهی هسته و سیتوپلاسم اعصاب و استرومیت‌های ماده خاکستری سیستم اعصاب مرکزی در غازها به شدت واکنش‌های مثبت ایمنوهیستوشیمی را نشان می‌دادند (تصویر ۸۷) در حالی که در اردک‌های مسکوی یک واکنش مثبت محدود در تعداد کمی نرون‌های تکی و سلول‌های گلیال قابل ردیابی بود (تصویر ۸۸). تجمعات آستینی لنفوسیت‌های اطراف عروق هرگز یک واکنش ایمنوهیستوشیمی مثبت را نشان ندادند.



تصاویر

تصاویر



تصاویر

تصاویر



تصاویر

تصاویر



تصویر ۲: بوقلمون ۲۸ روزه مبتلا به LPAI، التهاب شدید ملتحمه چشم و تورم سینوس‌های زیر چشمی



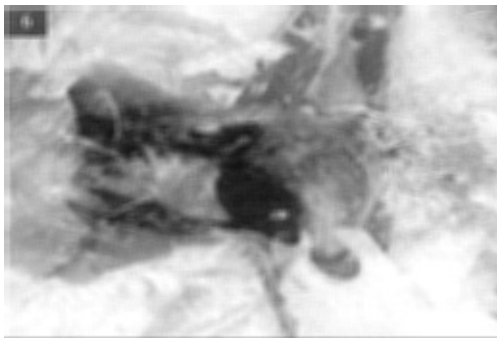
تصویر ۱: بوقلمون ۲۸ روزه، فاز حاد LPAI، کسالت، پره‌های ژولیده و التهاب ملتحمه چشم در پرندۀ‌های مبتلا



تصویر ۴: بوقلمون ۲۸ روزه مبتلا به LPAI، کسالت شدید، آمفی‌زم زیرپوستی ناشی از تجمع هوا در زیر پوست سر



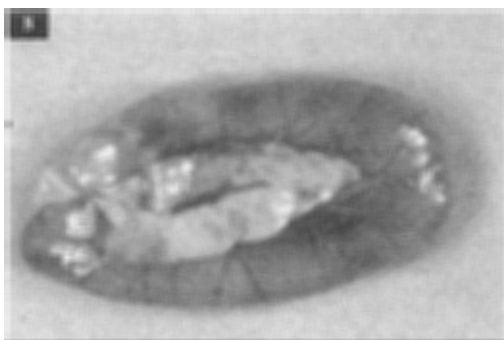
تصویر ۳: بوقلمون‌های گوشتی بالغ، LPAI، تورم سینوس‌های زیر چشمی



تصویر ۶: بوقلمون گوشتی بالغ، LPAI، پریکاردیت فایبرینی



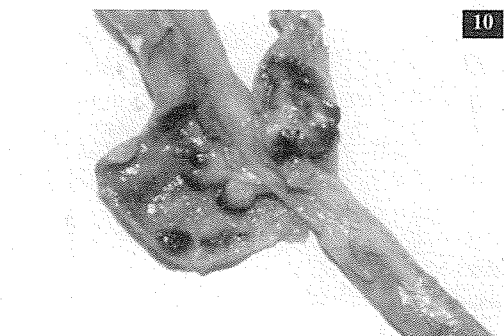
تصویر ۵: بوقلمون ۲۸ روزه مبتلا به LPAI، توده‌های پنیری در سینوس‌های زیر چشمی



تصویر ۸: بوقلمون ۲۸ روزه مبتلا به LPAI، التهاب لوزالمعده^۲ و دئودنوم^۳



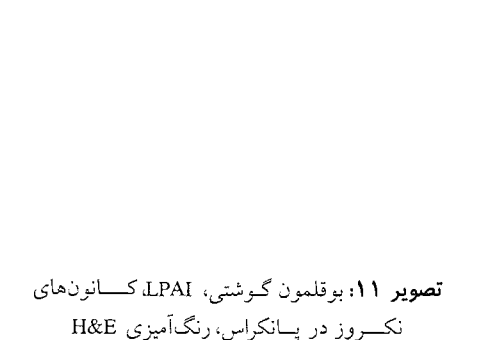
تصویر ۷: بوقلمون گوشتی بالغ، LPAI، بزرگی طحال^۱



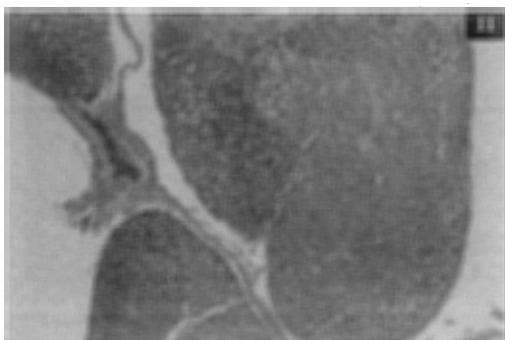
تصویر ۱۰: بوقلمون گوشتی بالغ، LPAI، خونریزی در لوزه‌های سکومی



تصویر ۹: بوقلمون گوشتی بالغ، LPAI، التهاب لوزالمعده و دئودنوم



تصویر ۱۱: بوقلمون گوشتی، LPAI، کانون‌های نکروز در پانکراس، رنگ‌آمیزی H&E



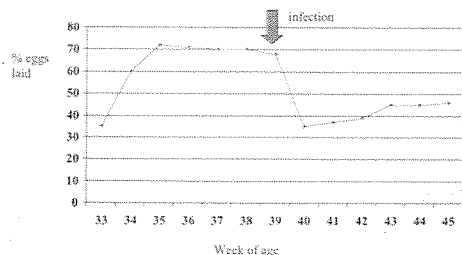
1. Splenomegaly

2. Pancreatitis

3. Duodenitis

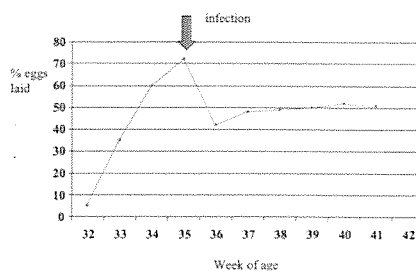
13

LP AI infection in turkey breeders
(infection at 40 weeks of age)

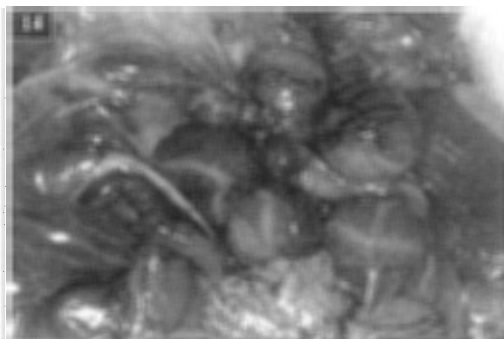


12

LP AI infection in turkey breeders
(infection at 35 weeks of age)



تصویر ۱۲، ۱۳: بوقلمون مادر، LP AI، منحنی تولید تخم بعد از درگیری با LP AI در هفته‌های ۳۵ و ۴۰



تصویر ۱۵، ۱۶: بوقلمون‌های مادر، HP AI، تلفات دسته‌جمعی، ۷۲ ساعت بعد از مشاهده اولین علائم بالینی (۱۵)، فلجی بال‌ها (۱۶)

تصویر ۱۴: بوقلمون مادر، LP AI، پریتونیت زرده تخم^۱



تصویر ۱۷: بوقلمون گوشتی، HP AI، کز کردن^۲ و فلجی بال‌ها قبل از مرگ

تصویر ۱۶

1. Egg-yolk peritonitis

2. Prostration



تصویر ۱۸، ۱۹: بوقلمون‌های مادر، HPAI، بی‌حالی شدید طی مرحله پیش از مرگ (۱۸)، به علت علائم عصبی و انقباضات اسپاسمی پرندگان قبل از مرگ به پشت می‌افتند (۱۹)



تصویر ۲۱: بوقلمون گوشتی، HPAI، التهاب هموراژیک نای (Haemorrhagic tracheitis)

تصویر ۲۰: بوقلمون مادر، HPAI، احتقان خون در اندام‌های داخلی

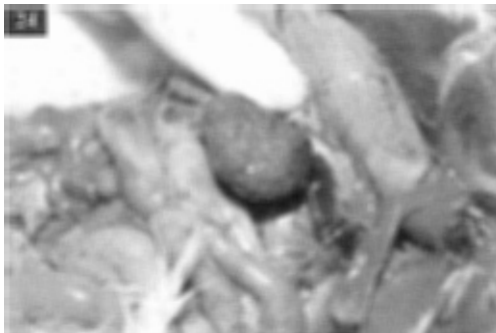


تصویر ۲۳: بوقلمون مادر، HPAI، التهاب هموراژیک پانکراس و دئودنوم

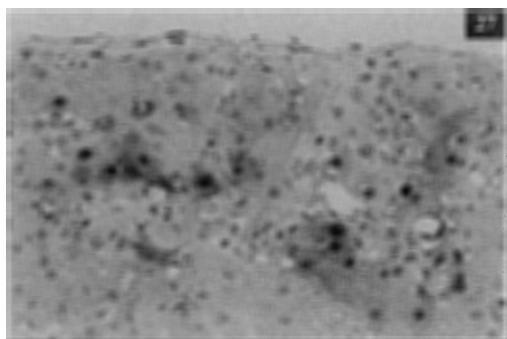
تصویر ۲۲: بوقلمون مادر، HPAI، التهاب پانکراس و دئودنوم



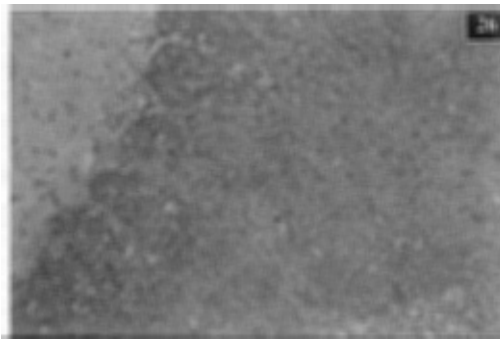
تصویر ۲۵: بوقلمون مادر، HPAI، خونریزی در لوزه‌های سکومی



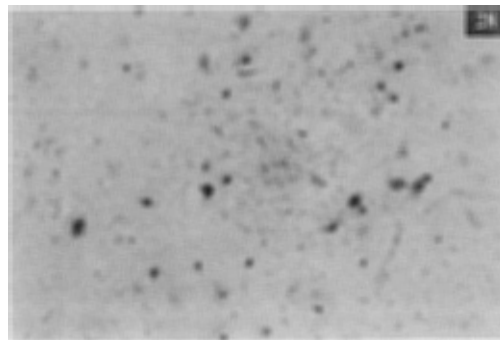
تصویر ۲۴: بوقلمون گوشتی بالغ، HPAI، احتقان خون و نکروز در طحال



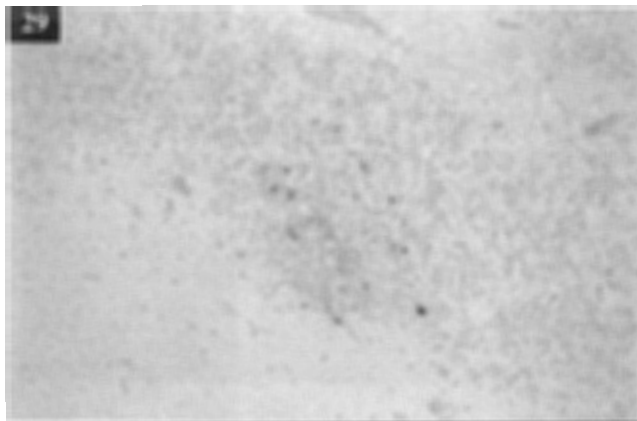
تصویر ۲۷: بوقلمون مادر، HPAI، ردیابی آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در پانکراس به وسیله رنگ‌آمیزی IHC



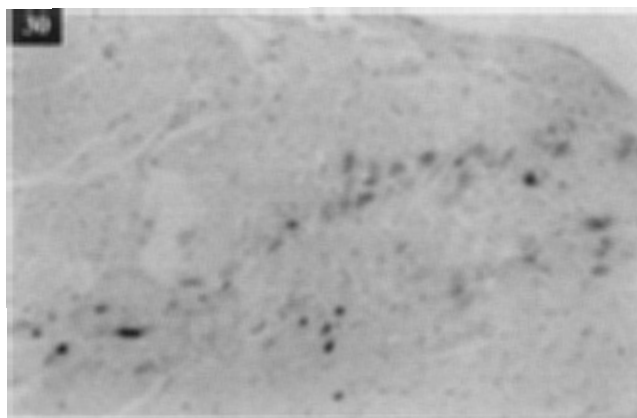
تصویر ۲۶: بوقلمون گوشتی بالغ، HPAI، نکروز منتشر سلول‌های آسینار در پانکراس، رنگ‌آمیزی H&E



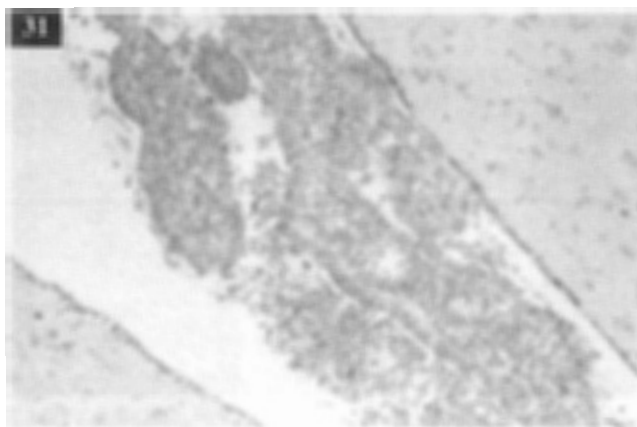
تصویر ۲۸: بوقلمون مادر، HPAI، ردیابی آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در مغز به وسیله رنگ‌آمیزی IHC



تصویر ۲۹: بوقلمون مادر، HPAI، ردیابی
آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A
در لایه گرانولار مخچه به وسیله رنگ آمیزی
IHC

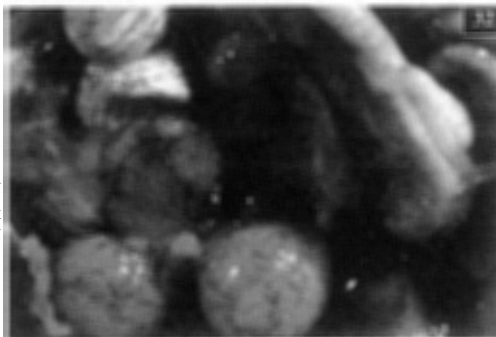
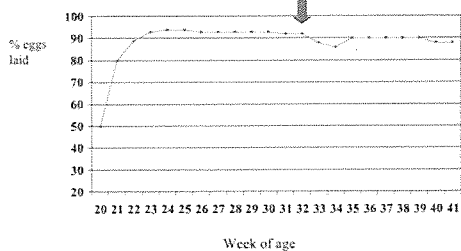


تصویر ۳۰: بوقلمون مادر، HPAI، ردیابی
آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A
در میوکارد قلب به وسیله رنگ آمیزی
IHC



تصویر ۳۱: بوقلمون مادر، HPAI، ردیابی
آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A
شبکه کروئید به وسیله رنگ آمیزی
IHC

LPAI infection in caged layers
(infection at 32 weeks of age)



تصویر ۳۳: مرغ تخم‌گذار داخل قفس، LPAI، نمودار تولید تخم طی درگیری در هفته ۳۲

تصویر ۳۲: مرغ تخم‌گذار، LPAI، پروتیونیت زرده تخم



تصویر ۳۵: مرغ مادر گوشتی، HPAI، خونریزی در مفصل خرگوشی

تصویر ۳۴: مرغ مادر گوشتی، HPAI، احتقان خون و سیانوز در تاج و ریش



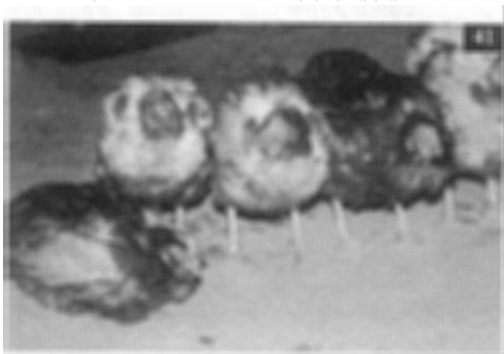
تصاویر ۳۶ و ۳۷: مرغ مادر گوشتی در دوره نقاهت، HPAI، وضعیت عمومی و نمای نزدیک سر



تصاویر ۳۹ و ۴۰: مرغ تخم‌گذار در قفس، HPAI، کسالت شدید در مرحله حاد بیماری، تاج چروکیده و رنگ پریده



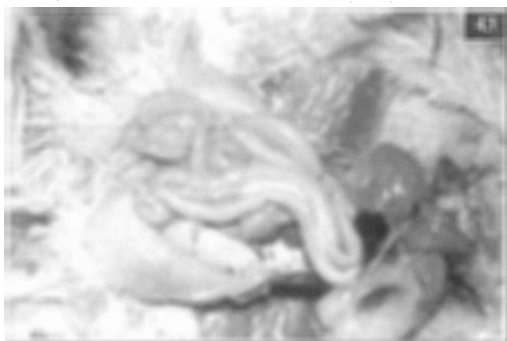
تصویر ۳۸: مرغ تخم‌گذار در سیستم قفس، HPAI، ظاهر سالن در شروع علائم بالینی



تصویر ۴۱: مرغ تخم‌گذار در سیستم قفس، HPAI، کزکردگی و بی میلی به حرکت در مرحله پیش از مرگ

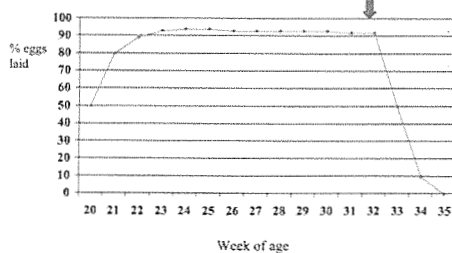


تصویر ۴۰

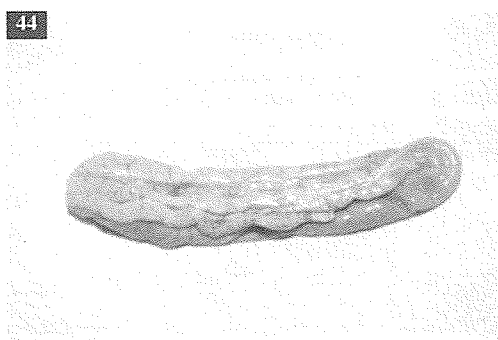
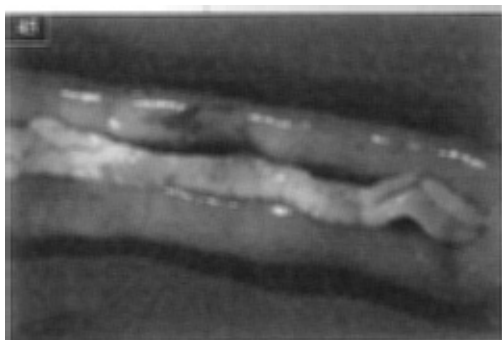


تصویر ۴۳: مرغ تخم‌گذار در سیستم قفس، HPAI، پانکراتیت

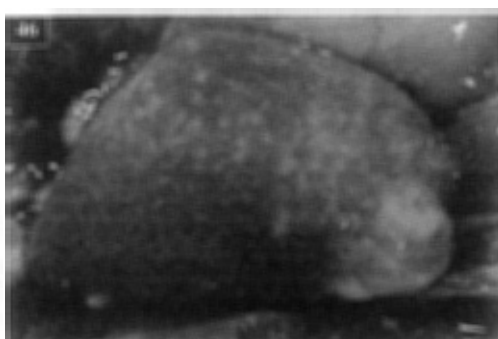
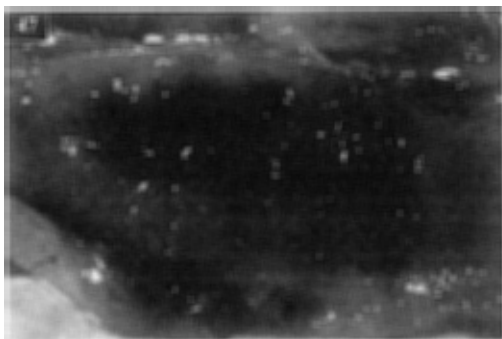
HPAI infection in caged layers
(infection at 32 weeks of age)



تصویر ۴۲: مرغ تخم‌گذار در سیستم قفس، HPAI، نمودار تولید تخم طی درگیری در هفته ۳۲

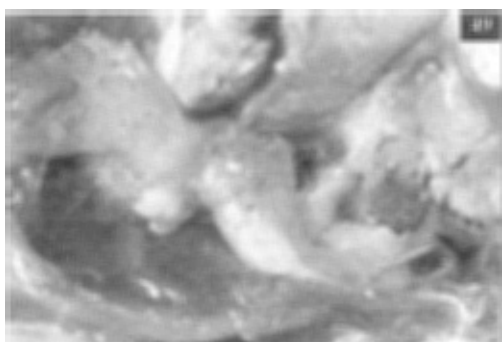


تصاویر ۴۴ و ۴۵: مرغ مادر گوشتی، HPAI، پانکراتیت



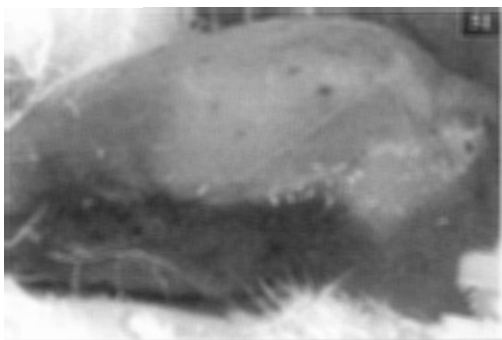
تصویر ۴۷: مرغ مادر گوشتی، HPAI، خونریزی در لوزه‌های سکومی

تصویر ۴۶: مرغ مادر گوشتی، HPAI، خونریزی در سرسجاقی بر روی طحال

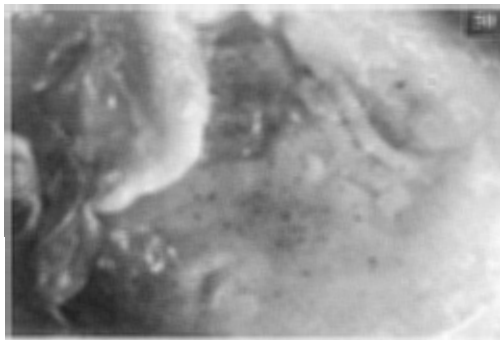


تصاویر ۴۹ و ۵۰: مرغ تخم‌گذار، HPAI، خونریزی بر روی چربی‌های شکمی

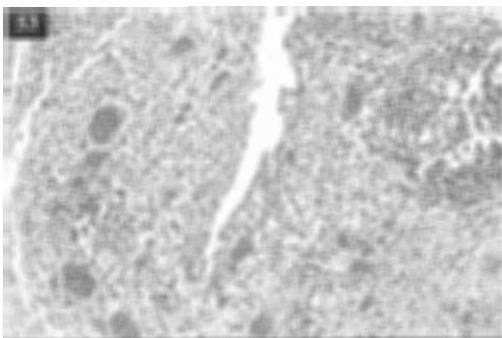
تصویر ۴۸: مرغ مادر گوشتی، HPAI، خونریزی بر روی اپی‌کارد قلب



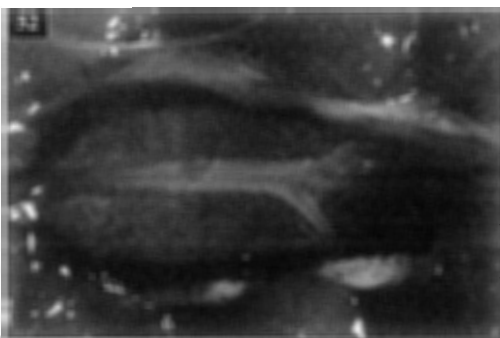
تصویر ۵۱: مرغ مادر گوشتی، HPAI، خونریزی در عضلات



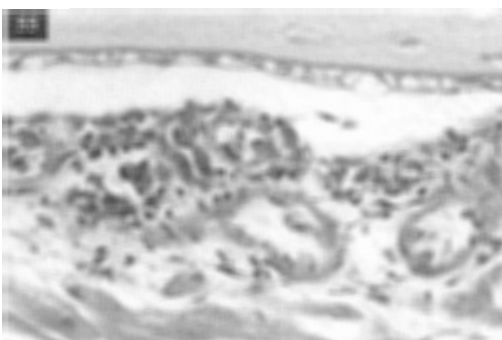
تصویر ۵۰



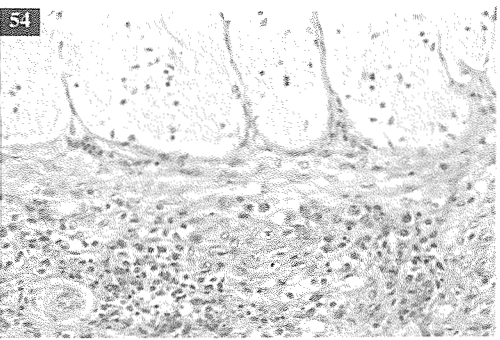
تصویر ۵۳: مرغ مادر گوشتی، HPAI، التهاب و نکروز در ملتحمه چشم، رنگ آمیزی H&E



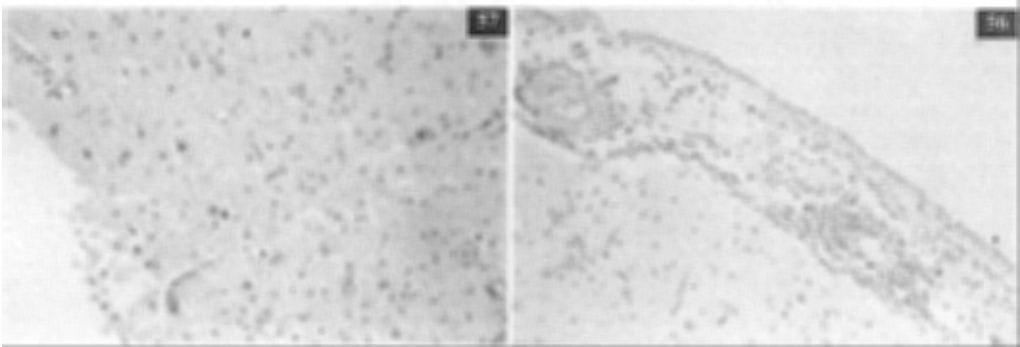
تصویر ۵۲: مرغ مادر گوشتی، HPAI، احتقان خون در کلیه و تجمع اورات در لوله‌های ادراری



تصویر ۵۵: مرغ مادر گوشتی، HPAI، نفوذ لنفوسیت‌ها و حضور تعدادی پلاسماسل در اطراف عروق عنبیه، رنگ آمیزی H&E

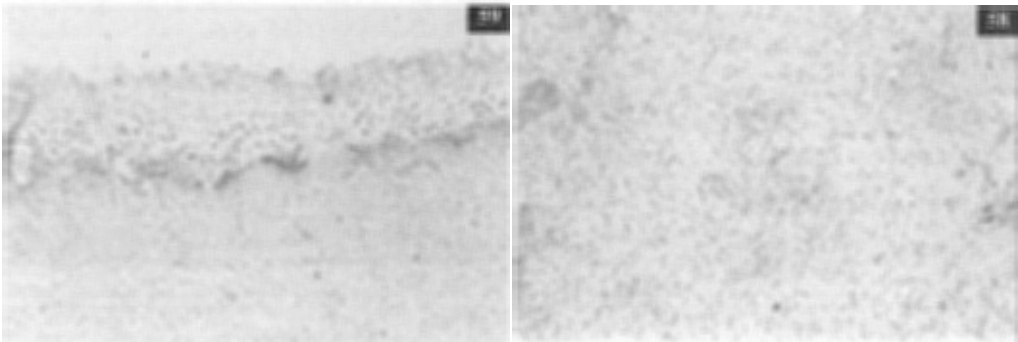


تصویر ۵۴: مرغ مادر گوشتی، HPAI، نفوذ لنفوسیت‌ها و اندکی هتروفیل در عصب چشمی، نفوذ پلاسماسل در مننژ، رنگ آمیزی H&E

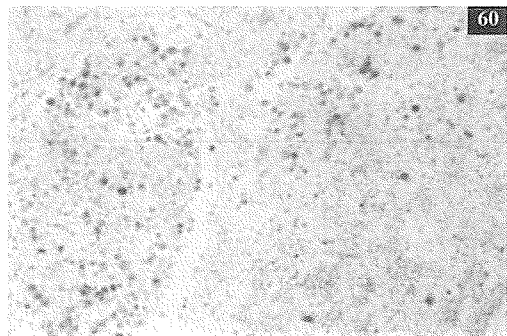


تصویر ۵۶: مرغ مادر در دوره نقاهت، HPAI، تجمع آستینی لنفوسیتی در اطراف عروق مغزی که در آن آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A به وسیله رنگ آمیزی IHC شناسایی نشد

تصویر ۵۷: مرغ مادر در دوره نقاهت، HPAI، ردیابی آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در نرون‌ها به وسیله رنگ آمیزی IHC



تصاویر ۵۸، ۵۹ و ۶۰: مرغ مادر، HPAI، ردیابی آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در تخمدان (۵۸)، اویدوکت (۵۹) و بیضه‌ها (۶۰) به وسیله رنگ آمیزی IHC



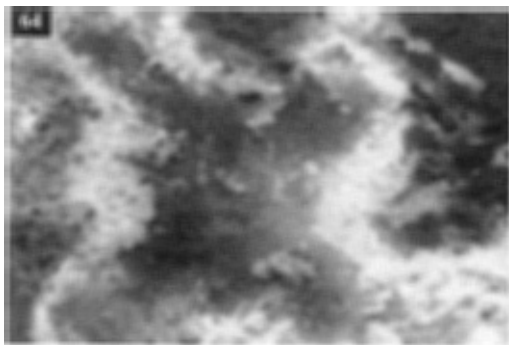
1. Perivascular lymphocytic cuffing



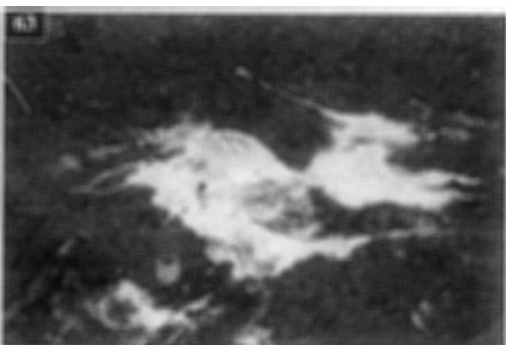
تصویر ۶۲: شتر مرغ جوان، HPAI، علائم شدید عصبی با کج گردنی (Torticollis)



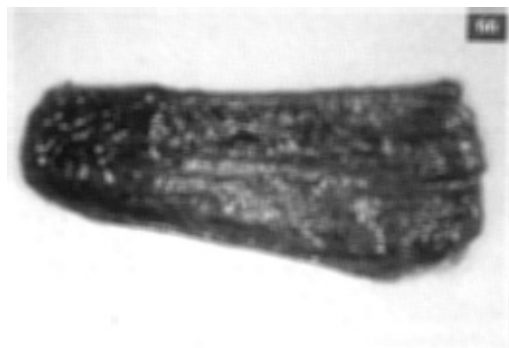
تصویر ۶۱: شتر مرغ جوان، HPAI، وضعیت عمومی



تصویر ۶۴: اسهال خونی از یک شتر مرغ مبتلا به HPAI



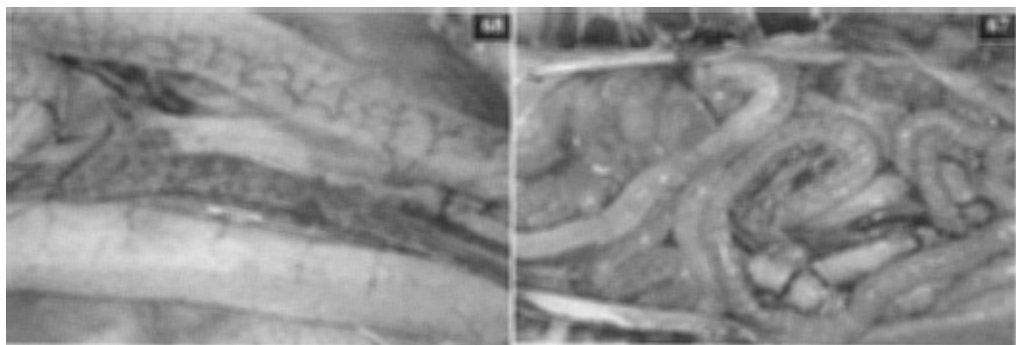
تصویر ۶۳: ادرار به رنگ سبز درخشان حاوی رسوبات اوراتی از یک شتر مرغ، HPAI



تصویر ۶۶: شتر مرغ جوان، HPAI، آنتریت نکروتیک - همورازیک

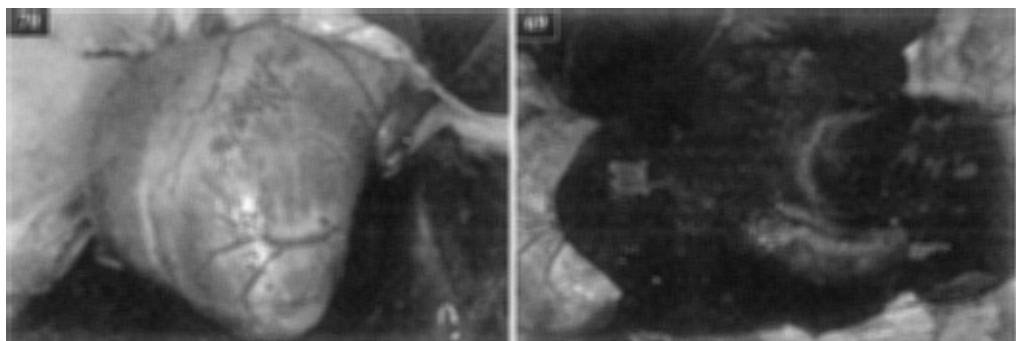


تصویر ۶۵: شتر مرغ جوان، HPAI، خروج مایعات سبزرنگ از محوطه دهانی و سوراخ‌های بینی



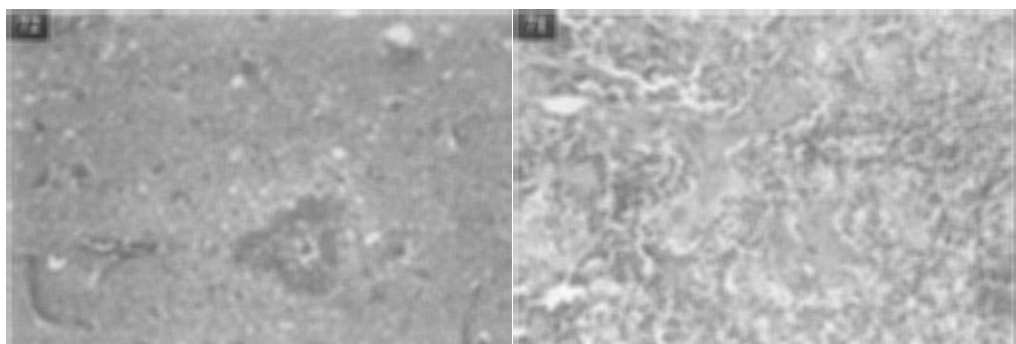
تصویر ۶۸: شترمرغ جوان، HPAI، پانکراتیت نکروتیک - هموراژیک

تصویر ۶۷: شترمرغ جوان، HPAI، خونریزی‌های سرسوزنی روی سرروز روده



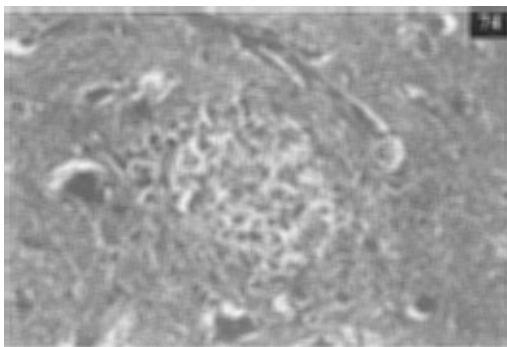
تصویر ۷۰: شترمرغ جوان، HPAI، خونریزی‌های سرسوزنی روی اپی‌کاردیوم

تصویر ۶۹: شترمرغ جوان، HPAI، کانون‌های نکروزی مجزا یا به هم پیوسته در سطح کبد

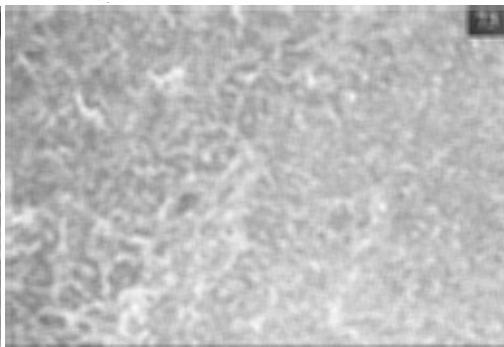


تصویر ۷۲: شترمرغ جوان، HPAI، نکروز فیبرینوئید در دیواره عروق خونی مغز، رنگ‌آمیزی H&E

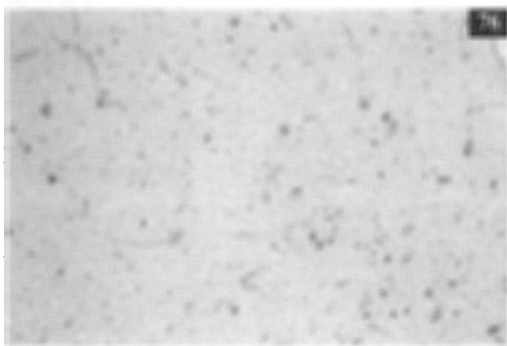
تصویر ۷۱: شترمرغ جوان، HPAI، نکروز فیبرینوئید در دیواره سرخرگ‌های طحال، رنگ‌آمیزی H&E



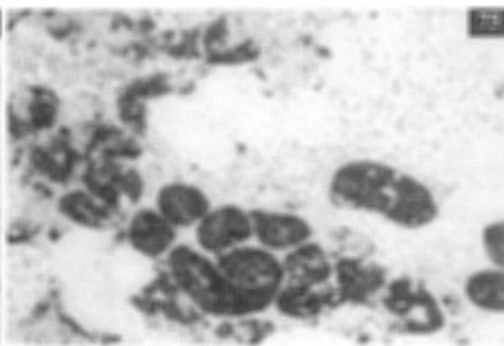
تصویر ۷۴: شترمرغ جوان، HPAI، نروئوفازیا در مغز،
رنگ آمیزی H&E



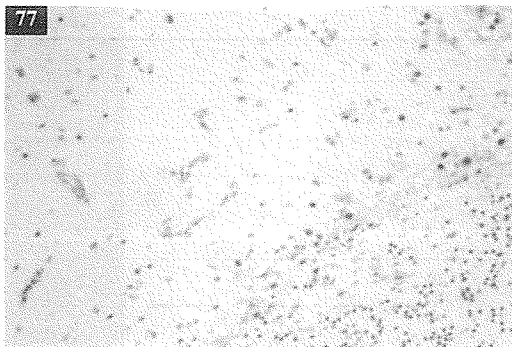
تصویر ۷۳: شترمرغ جوان، HPAI، نکروز منتشر
سلول‌های آسینار پانکراس، رنگ آمیزی H&E



تصویر ۷۶: شترمرغ جوان، HPAI، ردیابی آنتی ژن
نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در نرون‌های کورتکس
مغز با استفاده از رنگ آمیزی IHC

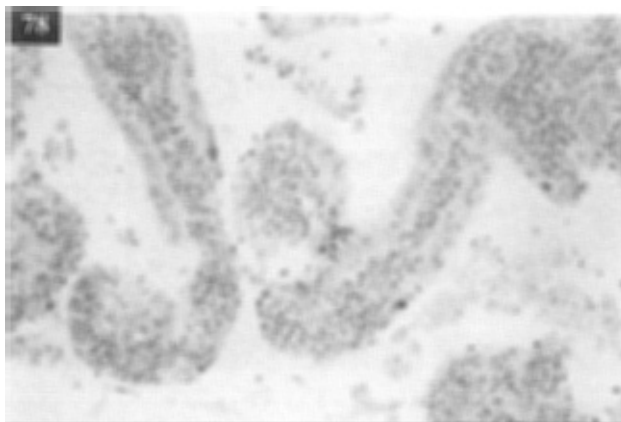


تصویر ۷۵: شترمرغ جوان، HPAI، ردیابی آنتی ژن
نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در سلول‌های اپی تلیال
توبول‌های کلیه با استفاده از رنگ آمیزی IHC

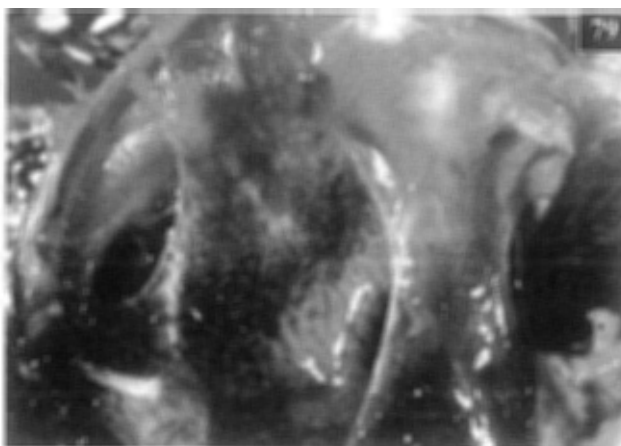


تصویر ۷۷: شترمرغ جوان، HPAI، ردیابی آنتی ژن
نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در لایه گرانولار
مخچه با استفاده از رنگ آمیزی IHC

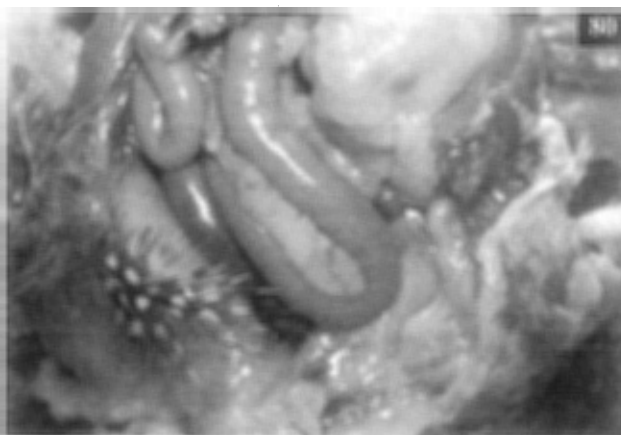
تصویر ۷۸: شتر مرغ جوان، HPAI، ردیابی
آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A
در سلول‌های اپی‌تلیال شبکه کرونید با
استفاده از رنگ آمیزی IHC. التهاب
لنفوسیتی کرونید نیز قابل مشاهده است



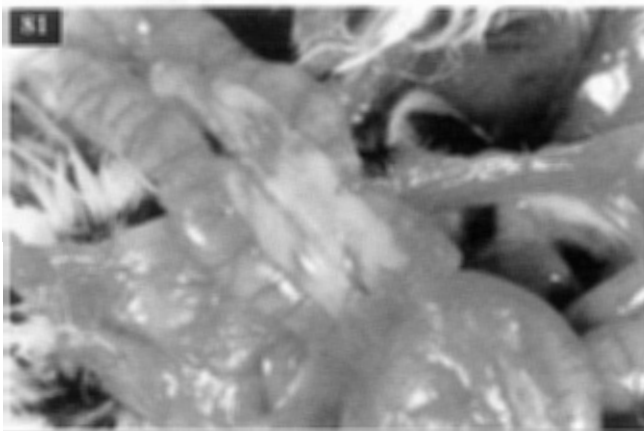
مرغ شاخ‌دار - تصاویر ۷۹ تا ۸۰



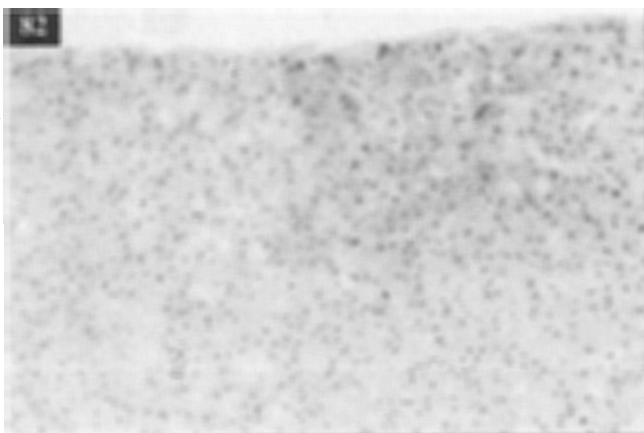
تصویر ۷۹: مرغ شاخ‌دار، HPAI، ادم ریوی



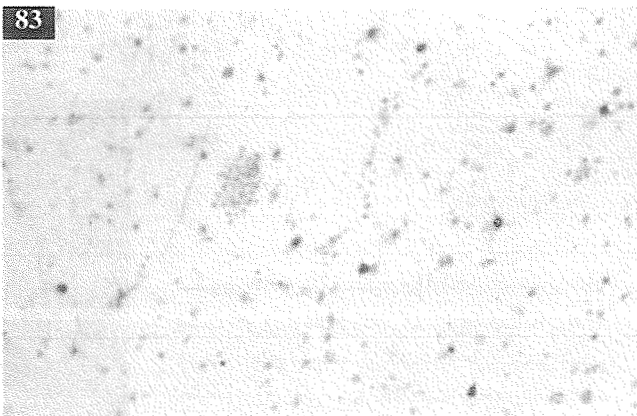
تصویر ۸۰: مرغ شاخ‌دار، HPAI،
پانکراتیت



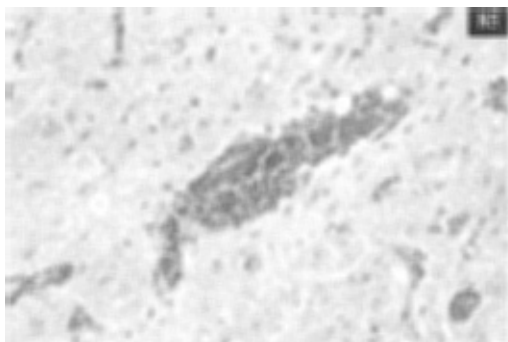
تصویر ۸۱: بلدرچین مادر، HPAI،
پانکراتیت هموراژیک



تصویر ۸۲: بلدرچین مادر، HPAI، ردیابی
آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A
در سلول‌های آسینار نکسی پانکراس با
استفاده از رنگ‌آمیزی IHC



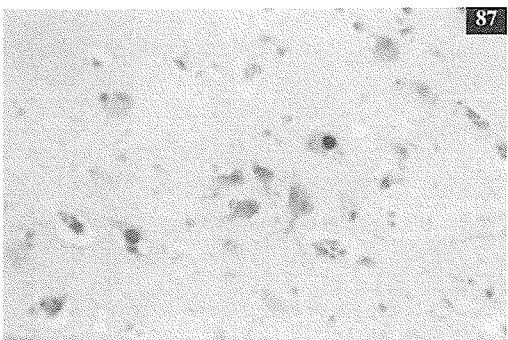
تصویر ۸۳: بلدرچین مادر، HPAI، ردیابی
آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A
در سیتوپلاسم و هسته نرون‌های مغز با
استفاده از رنگ‌آمیزی IHC



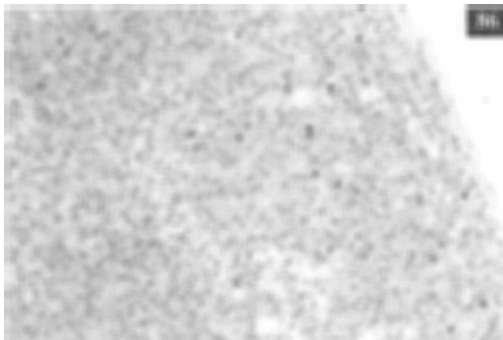
تصویر ۸۵: اردک مسکوی، HPAI، تجمع آستینی
لنفوسیتی اطراف عروق مغز، رنگ آمیزی H&E



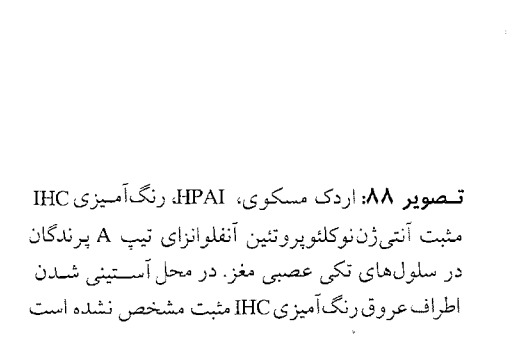
تصویر ۸۴: غاز اهلی، HPAI، پانکراتیت و التهاب
دئودنوم



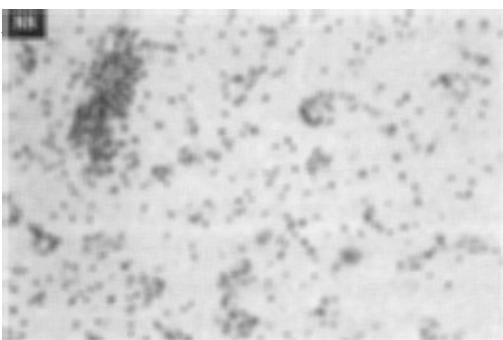
تصویر ۸۷: غاز اهلی، HPAI، شناسایی آنتی ژن
نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در سیتوپلاسم و هسته
نرون های مغز با استفاده از رنگ آمیزی IHC



تصویر ۸۶: غاز اهلی، HPAI، شناسایی آنتی ژن
نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A در سلول های تکی
آسینار پانکراس با استفاده از رنگ آمیزی IHC



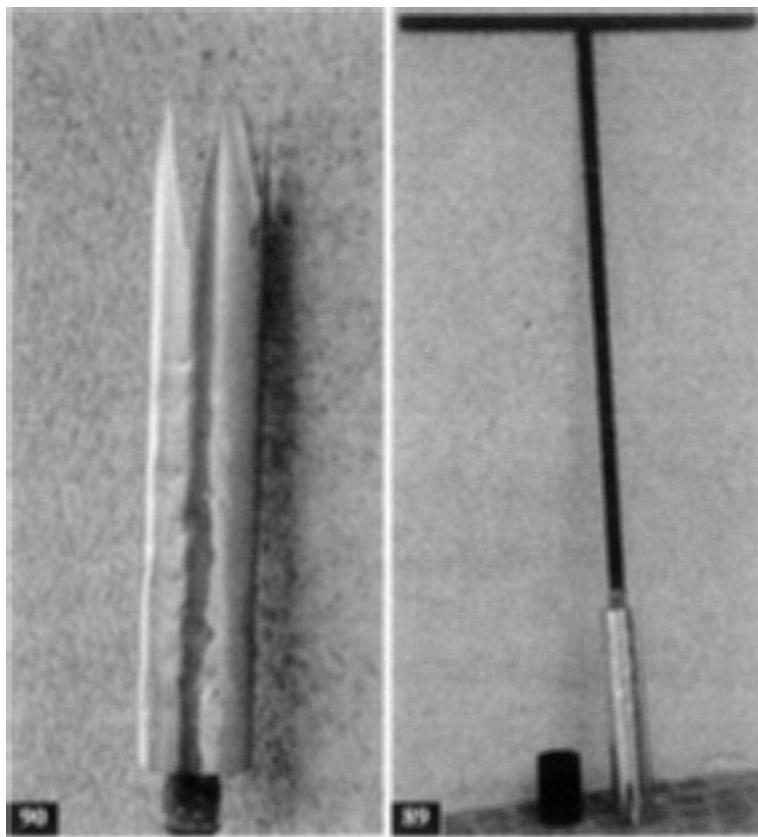
تصویر ۸۸: اردک مسکوی، HPAI، رنگ آمیزی IHC
مثبت آنتی ژن نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A پرندگان
در سلول های تکی عصبی مغز. در محل آستینی شدن
اطراف عروق رنگ آمیزی IHC مثبت مشخص نشده است



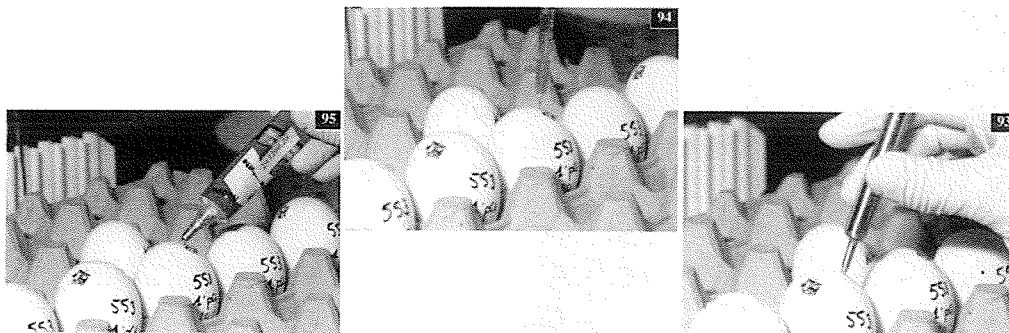
مدیریت همه گیری و تشخیص های آزمایشگاهی

تصاویر ۸۹ تا ۱۰۷

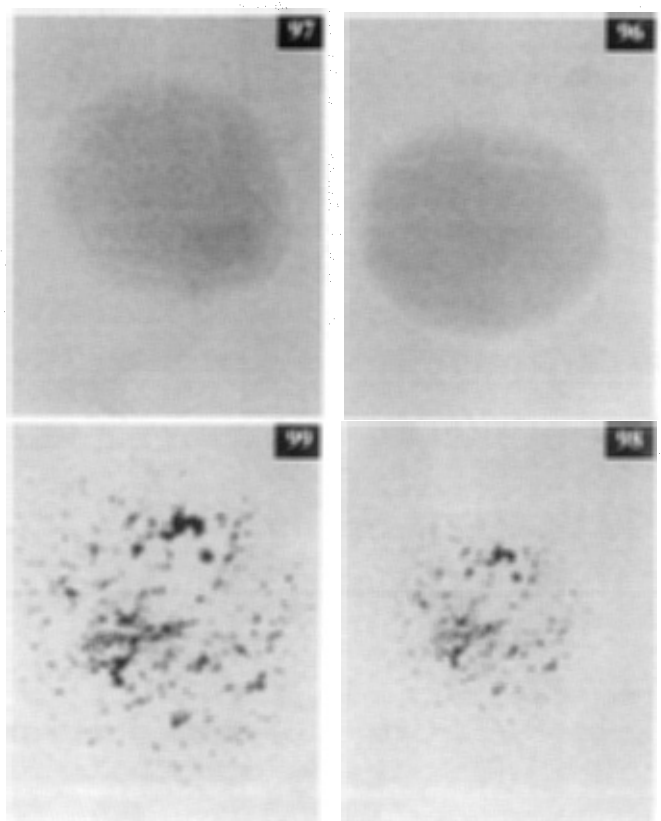
تصویر ۸۹ و ۹۰:
وسیله نمونه برداری از بستر



تصویر ۹۱ و ۹۲: روش نمونه برداری از بستر کپه شده جهت انجام آزمایشات آزمایشگاهی و نحوه اندازه گیری درجه حرارت داخلی در بستر کپه شده



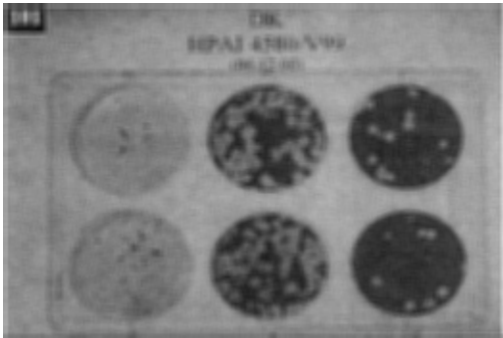
تصویر ۹۳، ۹۴ و ۹۵: سوراخ کردن تخم مرغ SPF، تلقیح داخل تخم مرغی و بستن سوراخ برای جداسازی ویروس



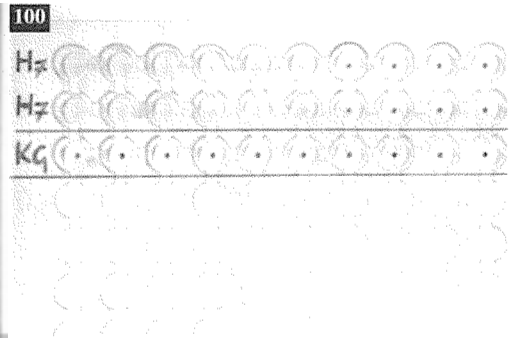
تصویر ۹۶، ۹۷، ۹۸ و ۹۹:

آزمایش همآگلوتیناسیون سریع بر روی صفحه: بلافاصله بعد از افزودن سوسپانسیون سلول های قرمز خونی به مایع آلانتوئیک آلوده (۹۶)، بعد از ۱۰ ثانیه (۹۷) و بعد از ۲۰ ثانیه (۹۸ و ۹۹)

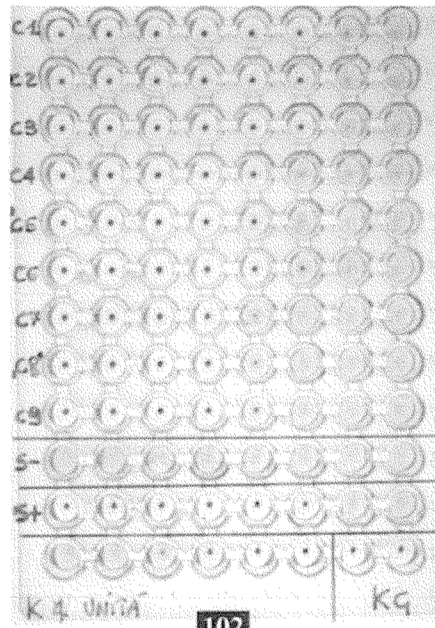
1. Rapid plate haemagglutination



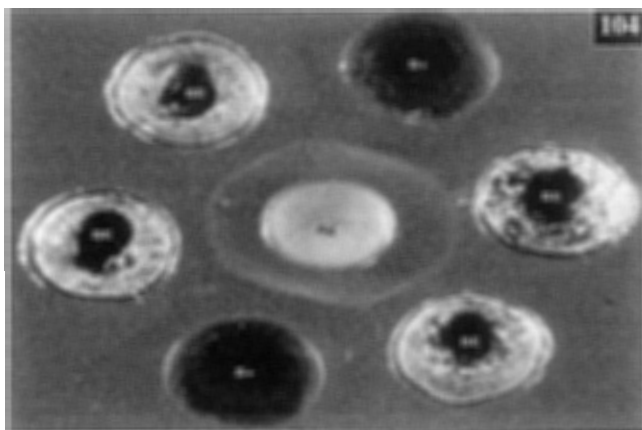
تصویر ۱۰۱: آزمایش تشکیل پلاک



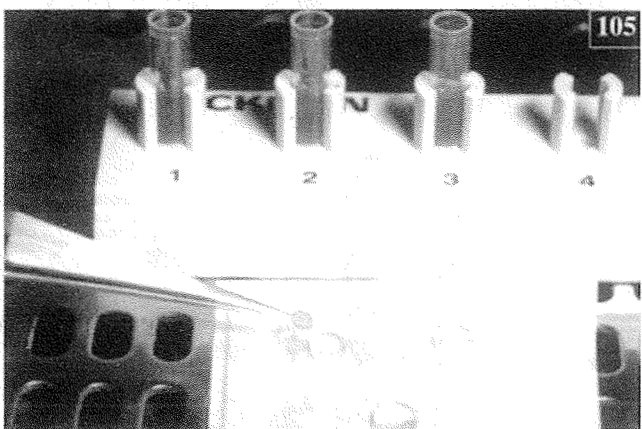
تصویر ۱۰۰: آزمایش هماگلوتیناسیون



تصویر ۱۰۲ و ۱۰۳: آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون، C۱ تا C۹ سرم‌های تحت آزمایش، S- سرم شاهد منفی، S+ سرم شاهد مثبت، آخرین ردیف کنترل حاوی ۴ واحد HA و دو چاهک آخری کنترل‌های RBC هستند. تصویر ۱۰۳ همان پلیت را در زمان خواندن نشان می‌دهد



تصویر ۱۰۴: آزمایش آگار ژل
پرسیپیتاسیون^۱، Ag: آنتی‌ژن، S+: سرم
مثبت، SE: سرم تحت آزمایش



تصویر ۱۰۵: رنگ‌آمیزی گرید^۲ برای
آزمایش میکروسکوپ الکترونیکی



تصویر ۱۰۶: تصویر الکترونیکی از یک
ویروس آنفلوآنزای پرندگان

1. Agar gel percipitation

2. Grid staining



تصویر ۱۰۷: توزیع جغرافیایی همه گیری HPAI طی سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰ در ایتالیا



اعمال مدیریت در همه گیری

تصاویر ۸۹ تا ۹۲

تخلیه

تخلیه مرغداری‌ها براساس دستورالعمل شماره ۹۳/۱۱۹/EC اتحادیه اروپا انجام شد. به دنبال تخلیه پرندگان آلوده، تمام سالن‌های خالی و تأسیسات آلوده براساس الزامات دستورالعمل شماره ۹۲/۴۰/EEC شستشو و ضدعفونی شدند. روش‌های اجرای تخلیه و بهداشت تأسیسات آلوده در طی همه‌گیری آنفلوآنزای ایتالیا در سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰ در کتابچه راهنمای حوادث غیرمترقبه گزارش شده است.

بهداشت تأسیسات آلوده

تیمار بستر آلوده

بسترهای آلوده در گودال‌ها دفن می‌شدند و حداقل با ۴۰ سانتی‌متر خاک پوشانیده می‌شدند و یا به صورت کپه‌شده در داخل و یا خارج از سالن بر روی هم انباشته می‌شدند که در این صورت با یک لایه پلاستیک مقاوم کاملاً و بادقت پوشانیده می‌شدند و اطراف آن با استفاده از آجر یا لاستیک اتومبیل کاملاً محصور می‌گشت. این اقدام جهت جلوگیری از دسترسی پرندگان وحشی، جوندگان و سایر حیوانات به مواد عفونی اعمال می‌شد و علاوه بر آن احتمال برداشته شدن پوشش پلاستیکی توسط باد متنفی می‌گشت.

نحوه بررسی رفع آلودگی در توده بستر آلوده

درجه حرارت داخلی و PH توده بستر با استفاده از ترمومتر و PH متر اختصاصی اندازه‌گیری می‌شد. برای این کار میله مخصوص دستگاه حداقل تا ۶۰ سانتی‌متر به داخل توده بستر فرو برده می‌شد و با بیرون کشیدن این سیلندر نمونه‌برداری مناسب انجام می‌شد (تصاویر ۸۹ تا ۹۲). گرمای داخلی در حد ۴۲ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد به عنوان درجه حرارت کافی جهت غیرفعال شدن ویروس گزارش می‌گردید. گاهی بر

روی نمونه‌های اخذ شده توسط دستگاه نمونه‌برداری اقداماتی جهت جداسازی ویروس انجام می‌شد و پرندگان SPF نگهدارنده برای مدت زمانی بین ۱۵ تا ۳۰ روز در سالن‌های پاکسازی و ضدعفونی شده قرار داده می‌شدند.

در ادامه، نمونه‌های اخذ شده از پرندگان، در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند و سپس در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند.

در ادامه،

نمونه‌های اخذ شده از پرندگان، در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند و سپس در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند. در ادامه، نمونه‌های اخذ شده از پرندگان، در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند و سپس در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند.

در ادامه،

نمونه‌های اخذ شده از پرندگان،

در ادامه،

نمونه‌های اخذ شده از پرندگان، در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند و سپس در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند. در ادامه، نمونه‌های اخذ شده از پرندگان، در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند و سپس در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند.

در ادامه، نمونه‌های اخذ شده از پرندگان،

نمونه‌های اخذ شده از پرندگان، در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند و سپس در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند. در ادامه، نمونه‌های اخذ شده از پرندگان، در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند و سپس در یک دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند.

واحد اپیدمیولوژی دامپزشکی^۱ (CREV)

آزمایشگاه مرجع ملی برای
بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوآنزای پرندگان

راهنمای مقابله با حوادث غیرمترقبه
برای آنفلوآنزای پرندگان

1. CENTRO REGIONALE EPIDEMIOLOGIA VETERINARIA

فهرست مطالب

مقدمه

۱. شناسایی واحدهای مشکوک
 - ۱-۱ گزارش موارد مشکوک
 - ۱-۲ حضور در واحدهای مشکوک
۲. بررسی اولیه
 - ۲-۱ بررسی بالینی
 - ۲-۲ جمع‌آوری نمونه پاتولوژی
 - ۲-۳ پرسشنامه اپیدمیولوژی
۳. خروج
۴. تجهیزات مورد نیاز
۵. تأیید بیماری آنفلوانزای پرندگان
۶. تخلیه و معدوم سازی پرندگان تلف شده
 - ۶-۱ ملاحظات عمومی
 - ۶-۲ افراد و تجهیزات لازم جهت تخلیه مرگداری و عملیات معدوم‌سازی
 - ۶-۳ کشتار و تخلیه مزارع
 - ۶-۴ معدوم کردن پرندگان
۷. معدوم کردن مواد آلوده
۸. ضدعفونی تأسیسات الوده
۹. تعداد سوآب هائی که باید در مزارع مشکوک به آنفلوانزای پرندگان اخذ گردد
۱۰. ضمیمه‌ها

راهنمای مقابله با حوادث غیرمترقبه آنفلوآنزای پرندگان

مقدمه

این مطلب خلاصه‌ای است از راهنمای مقابله با آنفلوآنزا که توسط مرکز اپیدمیولوژی دامپزشکی (CREV)^۱ و آزمایشگاه رفرائنس ملی ایتالیا برای بیماری نیوکاسل و آنفلوآنزا در انستیتو Zooprofilattico Sperimentale در ونیز تهیه شده است. این راهنما جهت ارائه اطلاعات عملی در مورد مدیریت مقابله با همه‌گیری آنفلوآنزای پرندگان تهیه شده است.

۱. شناسایی واحدهای مشکوک

۱.۱ گزارش موارد مشکوک:

به محض گزارش یک مورد مشکوک به آنفلوآنزای پرندگان دامپزشکان دولتی هویت شخص گزارش‌کننده را مشخص می‌نمایند و اگر شخص گزارش‌کننده خود مرگدار باشد، دامپزشکان دولتی اطلاعات زیر را جمع‌آوری می‌نمایند.

- محل مرغداری، خصوصیات و تعداد پرندگان و سایر حیوانات موجود در مزرعه،
- مشخصات کارکنان و وسایط نقلیه حاضر،
- آخرین موارد تردد افراد، تجهیزات، وسایط نقلیه و حیوانات،
- میزان دسترسی به ضدعفونی‌کننده‌ها و تجهیزات ضدعفونی در واحد مرغداری.

دامپزشکان شاغل در مزارع بزرگ پرورش طیور و دامپزشکان بخش خصوصی نیز ملزم به گزارش موارد مشکوک هستند و باید واحدهای دامپزشکی دولتی کشور را در جمع‌آوری اطلاعات همراهی نمایند. در این شرایط تا زمان حضور دامپزشکان دولتی در محل، دامپزشکان شاغل در شرکت‌های پرورش طیور و دامپزشکان بخش خصوصی باید در جهت ممانعت از گسترش آلودگی حداکثر تلاش خود را به کار گیرند. وسایط نقلیه متعلق به نمایندگان سازمان‌های دامپزشکی دولتی و دامپزشکان مزارع پرورشی باید خارج از

1. Centro Regionale per l'Epidemiologia Veterinaria

- محوطه واحد آلوده و در فاصله‌ای دور از درب ورودی فارم پارک شود.
- نمایندگان سازمان‌های دامپزشکی دولتی هماهنگی‌های لازم جهت جلوگیری از تردد افراد، حیوانات، تجهیزات و وسایط نقلیه در واحدهای درگیر را به شرح ذیل انجام می‌دهند:
- باید مورد مشکوک به آنفلوآنزای پرندگان به اطلاع آزمایشگاه سازمان دولتی مربوطه رسانیده شود.
- باید مورد مشکوک به آنفلوآنزای پرندگان به اطلاع رئیس شبکه دامپزشکی منطقه رسانیده شود و نزدیکترین واحد گشت ضد عفونی‌کننده شناسایی شود و در جریان مورد مشکوک قرار گیرد.
- اقلام موجود در «لیست شماره ۱» در اختیار واحد مشکوک قرار گیرد (مورد شماره ۴).

۱-۲ حضور در واحدهای مشکوک:

ورود به واحدهای مشکوک باید به دنبال تعویض کامل پوشش افراد صورت بگیرد. تمام افرادی که قصد ورود به فارم را دارند باید از پوشش قابل تعویض شامل کلاه و پوشش کفش استفاده نمایند. اتاق تعویض لباس باید با پاکت‌های پلاستیکی بزرگ، جعبه‌های مقوایی، دستکش‌های لاتکس و مقدار کافی ماده ضد عفونی‌کننده تجهیز گردد (مورد شماره ۸ را ملاحظه نمایید). اقلام باقیمانده از لیست شماره ۱ جهت استفاده در داخل سالن می‌باشند.

اقدامات دیگری که توسط دامپزشکان بخش دولتی صورت می‌گیرد عبارتند از:

- فارم در شرایط قرنطینه قرار گیرد (براساس توافق کتبی).
- تعهدنامه کتبی مبنی بر اینکه هیچ واحد پرورشی دیگری را طی ۳ روز آینده ملاقات نکنند، از کارکنان فارم درگیر اخذ می‌گردد. دامپزشکان دولتی و سایر دامپزشکان نیز باید این مقررات عمومی را رعایت نمایند.
- در فارم، محلی با کلیه امکانات شستشو و ضد عفونی تعیین گردد تا ماشین‌هایی که قصد خروج از فارم را دارند به درستی ضد عفونی گردند.
- در فارم محلی با کلیه امکانات شستشو و ضد عفونی تعیین گردد تا افراد و کارکنان فارم قبل از خروج نسبت به تعویض لباس‌ها، شستشو و ضد عفونی قسمت‌های باز بدن و کفش‌هایشان اقدام نمایند. انجام این اقدامات و نیز تعویض لباس‌ها و شستشوی آن‌ها در اسرع وقت برای کلیه افراد و کارکنان الزامی است.
- شستشو و ضد عفونی وسایط نقلیه باید در داخل و خارج فارم صورت گیرد و وسایط نقلیه تنها در

۱۰. اعمال مدیریت در همه گیری

صورت ضرورت محل واحد درگیر را ترک نمایند. توجه کافی و دقیق جهت جلوگیری از آلوده شدن منابع طبیعی و مصنوعی آب ضروری است.

دامپزشکان آزمایشگاهی مجهز به اقلام لیست شماره ۲ (مورد شماره ۴ را ملاحظه نمایید)، به همراه یک نفر راننده که جهت انتقال نمونه های بیمار به آزمایشگاه در بیرون از تأسیسات واحد منتظر می ماند در محل فارم حاضر می شوند. دامپزشکان آزمایشگاه باید پوشش های محافظ خود را در اتاق مخصوص تعویض نمایند. اقلام زیر از لیست شماره ۲ را در محل تعویض لباس قرار دهند.

- ظرف ضد آب بدون نشت

- ظرف عایق برودت (فلاسک) جهت حمل نمونه ها

- دو جفت دستکش لاتکس

- پنج عدد کیسه پلاستیکی قابل اتوکلاو کردن

- پنج عدد کیسه زباله سیاه رنگ

- محلول ضد عفونی

مابقی اقلام لیست شماره ۲ باید به داخل سالن حمل شوند.

۲. بررسی اولیه

دامپزشکان دولتی و آزمایشگاهی اطلاعات زیر را جمع آوری می نمایند:

- تعیین مشخصات اولیه واحد و اجزای آن، به عبارت دیگر توپوگرافی فارمی که مشکوک به بیماری آنفلوآنزای پرندگان گزارش شده است.

- تعیین هویت تمام کارکنان که در ارتباط مستقیم با واحد می باشند.

- تشکیل پرونده و ثبت تاریخچه بیماری

۲-۱ بررسی بالینی

هدف تحقیقات بالینی تعیین وضعیت بالینی حاکم بر مزرعه است. تحقیقات بالینی باید بر روی تمام گونه های حساس موجود در مزرعه صورت گیرد و باید از بیرونی ترین واحدها شروع شود. هرگونه واکنش های انجام شده در مزرعه باید با توجه خاصی مدنظر قرار گیرد و تمام این اطلاعات باید در فرم پرسشنامه اپیدمیولوژی گزارش گردد.

تمام پرندگان مشکوک به ابتلا با ذکر گونه مربوطه باید شناسایی گردند و گزارشی شامل تاریخ شروع علائم بالینی، توضیح علائم بالینی و درصد مرگ و میر گزارش شده مربوط به هر گونه تهیه گردد.

۲-۲ جمع‌آوری نمونه پاتولوژی:

در موارد مشکوک به آنفلوآنزای پرندگان نمونه‌های زیر باید جمع‌آوری و به آزمایشگاه فرستاده شود:

- حداقل ۵ پرنده تلف شده (جهت کالبدگشائی و بررسی‌های بعد از مرگ)،
- نمونه‌های نای و ریه از ۵ پرنده تلف شده،
- نمونه‌های روده‌ای از حداقل ۵ پرنده تلف شده،
- سوآب‌های اخذ شده از کلوآک و نای پرندگان سالم (همچنین از پرندگان آبی و شترمرغ‌ها)،
- حداقل ۱۰ نمونه خونی (سرم مرحله حاد).

نمونه‌های اخذ شده از واحدهای متفاوت نباید با هم مخلوط شوند. جهت ممانعت از انتشار عامل عفونی، نمونه باید به طور مناسبی در محفظه‌های بدون نشت پوشیده شده توسط حداقل ۲ عدد پاکت پلاستیکی بسته‌بندی گردند و درون یخچال یا در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردند. پرنده‌های سربریده شده را می‌توان درون کیسه‌های پلاستیکی اتوکلاو شده و بدون نشتی حمل نمود که در داخل کیسه بدون نشت و قابل اتوکلاو دیگری قرار داده شده‌اند. تمام نمونه‌ها باید درون یک جعبه پلی‌استیرن حاوی کیسه‌های یخ مرطوب حمل گردند. جعبه پلی‌استیرن باید قبل از ترک واحد درگیر به طور مناسبی ضدعفونی گردد. فرم مخصوص پس از تکمیل شدن باید به همراه نمونه‌ها ارسال گردد (ضمیمه شماره ۲). راننده مسئول حمل و تحویل نمونه باید مستقیماً و بدون هیچگونه توقفی نمونه‌ها را به آزمایشگاه انتقال دهد.

۲-۳ پرسشنامه اپیدمیولوژی

از دامپزشکان دولتی و آزمایشگاهی خواسته می‌شود که فرم پرسشنامه اپیدمیولوژی را به دقت پر نمایند (ضمیمه شماره ۱). در ارتباط با این پرسشنامه موارد زیر اهمیت زیادی دارند:

- تردد حیوانات: هرگونه حمل و نقل حیوانات از زمان ۲۰ روز قبل از شروع اولین علائم بالینی باید ثبت گردد.
- تردد اشخاص: مشخصات تمام افرادی (کارکنان، وابستگان، پرسنل خدماتی، دامپزشکان) که به مجموعه تردد داشته‌اند باید ثبت گردد.

۱۰. اعمال مدیریت در همه گیری

● تردد وسایط نقلیه: تردد تمام وسایط نقلیه حتی در صورت عدم تماس با حیوانات داخل فارم باید ثبت و گزارش گردد.

پرسشنامه اپیدمیولوژی باید به محض پر شدن به مراجع زیربط ارسال یا فاکس گردد.

۳. خروج

بعد از بررسی بالینی و جمع آوری نمونه ها دامپزشکان دولتی و آزمایشگاهی باید در اتاق مخصوص، لباس های محافظتی خود را تعویض و ضد عفونی کنند و تمام تجهیزات قابل استریل شدن را در داخل یک کیسه قرار دهند. این کیسه مجدداً در داخل کیسه دیگری قرار می گیرد. هر دو کیسه غیر قابل نشت و قابل اتوکلاو شدن می باشند و نهایتاً باید اتوکلاو شوند. تمام موارد یکبار مصرف، برگه های کاغذ، لباس های یکبار مصرف و روکش های کفش در درون یک کیسه پلاستیکی قرار داده شده و در داخل واحد درگیر باقی گذاشته می شوند.

۴. تجهیزات مورد نیاز:

لیست شماره ۱ برای دامپزشکان بخش دولتی

— کاغذ و قلم

— فرم پرسشنامه اپیدمیولوژی

— تجهیزات مورد نیاز جهت مشاهده بالینی و نمونه برداری

● لباس یکبار مصرف

● پنج جفت روکش کفش یکبار مصرف

● چندین جفت دستکش نایلونی و ۵ جفت دستکش لاتکس

● ماسک صورت و کلاه یکبار مصرف

● دستمال کاغذی

● ظروف بدون نشت

● کیسه های پلاستیکی مقاوم به آب و غیر قابل نشت

● محلول ضد عفونی کننده

● ۲ عدد خودکار و یک عدد زیر نویس

- ۱۰۰ عدد سرنگ ۲/۵ سی سی با سر سوزن
 - ۱۰۰ عدد کیسه پلاستیکی نازک کوچک
 - ۲ جفت قیچی جراحی
 - ۲ جفت پنس جراحی
 - چسب
 - ۲ عدد قلم مو
 - ۱ ظرف عایق (فلاسک)
 - کیسه یخ منجمد
- حداقل دو سری از اقلام لیست فوق باید همیشه آماده و در دسترس مسئولین ادارات کل دامپزشکی قرار داشته باشد.

لیست شماره ۲ برای دامپزشکان آزمایشگاهی

- ظرف عایق (فلاسک)
- چهار جفت پنس جراحی
- چندین جفت قیچی جراحی
- ۱ عدد چاقو
- چسب
- برچسب و خودکار
- ۱۰۰ عدد سرنگ ۲/۵ سی سی با سر سوزن
- سوآب استریل
- ۵۰ عدد لوله آزمایش حاوی محیط حمل ویروس
- ۱۰ عدد ظرف غیر قابل نشت
- لباس یکبار مصرف
- چندین جفت روکش کفش یکبار مصرف
- چندین جفت دستکش لاتکس
- ماسک صورت و کلاه یکبار مصرف

۱۰. اعمال مدیریت در همه گیری

- ۱۰ عدد کیسه زباله سیاه
- ۵۰ عدد باند لاستیکی
- ماده ضد عفونی کننده در داخل دستگاه اسپری
- کارتن مقوایی

۵. تأیید بیماری آنفلوآنزای پرندگان

در صورت تأیید تشخیص درگیری آنفلوآنزای پرندگان تمام اقدامات لازم در جهت جلوگیری از گسترش و ریشه کنی آن به کار گرفته می شود.
دامپزشکان دولتی باید:

- واحدهای سیار ضد عفونی را فعال نمایند. این واحدها باید تنها در محل ورود و خروج مزارع درگیر مستقر گردند.
- جهت متوقف نمودن احتمال همه گیری باید تعداد وسایط نقلیه و کارکنان را به حداقل مورد نیاز کاهش داد. هر کدام از کارکنان که در تماس با موارد آلوده بوده اند فقط بعد از تعویض لباس و در صورت امکان دوش گرفتن واحد را ترک نمایند. کارکنان مسئول تخلیه مزرعه حداقل تا سه روز بعد از آخرین ورودشان به واحد درگیر هیچگونه تماس با گونه های حیوانی حساس به آنفلوآنزای پرندگان نداشته باشند.
- هماهنگی با گروه تخلیه، گروه معدوم سازی، وسایط حمل و نقل جهت دفن لاشه ها و گروه ضد عفونی کننده انجام پذیرد.

۶. تخلیه و معدوم سازی پرنده های تلف شده

۶-۱ ملاحظات عمومی

جهت جلوگیری از گسترش آلودگی، تخلیه و معدوم سازی پرنده های درگیر باید با حداکثر سرعت و در کوتاه ترین زمان ممکن و مطابق قوانین حاضر صورت گیرد.
علاوه بر این، جهت جلوگیری از دسترسی پرنده های وحشی و سایر حیوانات به مواد آلی آلوده این عملیات باید در داخل سالن ها با درها و پنجره های بسته انجام شود. به طور کلی و در صورت امکان دفن کردن پرندگان در محل واحد درگیر با بیماری ارجح تر از دفن آن ها در محل دیگری است. در هر حال این روش ها

باید با بررسی دقیق موقعیت جغرافیایی همه گیری انجام گیرد.

۶-۲ افراد و تجهیزات لازم جهت تخلیه مرغداری و عملیات معدوم سازی

- میله چوبی و نوار پلاستیک قرمز و سفید جهت مشخص نمودن مکان آلوده و محل ورود و خروج به فارم،
- واحدهای سیار ضد عفونی،
- وسایل شب‌نما،
- حضور حداقل یک دامپزشک دولتی در هر فارم آلوده،
- افراد به تعداد کافی جهت اجتناب از فشار کاری زیاد برای تخلیه مرغداری،
- وسایط نقلیه لازم جهت حمل لاشه‌ها به خارج از مزرعه و تعیین مسیر دقیق حمل لاشه‌ها،
- نیروی پلیس یا سایر سرویس‌های امنیتی اجتماعی جهت همراهی و مراقبت از وسایط نقلیه حامل لاشه‌ها تا محل معدوم سازی آن‌ها،
- گاز، دارو و وسایل لازم جهت بی‌حس و بی‌حرکت کردن پرندگان و تخلیه سالن‌ها (در مورد شتر مرغ‌ها ممکن است تفنگ بیهوشی لازم باشد)،
- ظروف مناسب جهت دور ریختن مواد آلوده.

۶-۳ کشتار و تخلیه مزارع

مطابق دستورالعمل EC/۱۱۹/۹۳ اتحادیه اروپا، کشتار گله‌های آلوده می‌تواند توسط یکی از روش‌های زیر انجام شود:

- استفاده از الکتریسته با روش فرو بردن در آب
 - کشتن انفرادی با جابه‌جایی مهره‌های گردن
 - خفه کردن با دی‌اکسید کربن
 - تانک خلاء
 - وسایل مکانیکی برای له کردن تخم مرغ‌های جنین دار و جوجه‌ها
- روش‌های دیگر جهت کشتار پرنده‌ها در مزرعه به شرح زیر می‌باشند:
- در گله‌هایی که دارای تعداد محدودی پرنده هستند، تجویز داخل نایی داروهای مورد استفاده برای

۱۰. اعمال مدیریت در همه گیری

کشتن بی درد حیوانات خانگی می تواند به کار گرفته شود.

● در گله هایی که دارای تعداد زیادی پرند ه هستند عملیات کشتار می تواند به روش خفه کردن به وسیله گاز در محفظه های بسته انجام شود. تعداد پرنده ها برای هر متر مکعب گاز نباید از ۱۵۰ قطعه (با وزن متوسط ۱/۸ کیلوگرم) بیشتر باشد.

گازهای مورد استفاده در کشتار پرنده ها:

۱. دی اکسید کربن (CO_2)، $17/5 kg/1000 m^3$: در عرض ۳۰ دقیقه در محیط به حد اشباع می رسد و مرگ پرنده ها در عرض ۱۵ دقیقه رخ می دهد.
۲. منواکسید کربن (CO)، $8 kg/1000 m^3$: در عرض ۳۰ دقیقه در محیط به حد اشباع می رسد و مرگ پرنده ها در عرض ۱۵ دقیقه رخ می دهد.
۳. سیانید هیدروژن (HCN)، $3 kg/1000 m^3$: در عرض ۳۰ دقیقه در محیط به حد اشباع می رسد و مرگ پرنده ها در عرض ۴ دقیقه رخ می دهد. این گاز به شدت سمی است و باید توسط افراد تعلیم دیده استفاده شود.

داروهای قابل استفاده جهت کشتار و تخلیه گله های پر جمعیت:

- آلفا کلورالوز^۱، ۶-۲ درصد مخلوط با غذا، باعث از بین رفتن هوشیاری پرنده ها می شود و در ادامه مرگ پرنده به خاطر خفگی در اثر کمبود اکسیژن در داخل کیسه های پلاستیکی صورت می گیرد. این روش تنها در صورت عدم کاهش اشتها در پرندگان قابل استفاده است.
- فنوباربیتال سدیم^۲ در داخل آب آشامیدنی ($80 mg/55 ml$)، باعث از بین رفتن هوشیاری پرندگان در عرض ۴ ساعت می شود و بقیه عملیات نظیر روش قبل انجام می شود.

۴-۶. معدوم کردن پرنده ها:

دفن: در نواحی که اجازه دفن پرنده ها به عنوان یک روش معدوم سازی داده شده است، به محض تأیید تشخیص آنفلوآنزا گودالی حفر می شود. گودال باید حداقل ۲ متر عرض و ۲ متر عمق داشته باشد که می توان

1. Alfa chloralose

2. Sodium fenobarbital

۳۰۰ پرنده (با وزن متوسط ۱/۸kg) برای هر ۱/۳ متر سطح در آن دفن نمود. با افزایش هر متر به عمق گودال می توان تعداد پرنده ها را دو برابر کرد. تمام مواد قابل تجزیه و غیر قابل ضد عفونی مثل چوب و کارتن باید همراه با پرنده ها دفن گردند. لاشه ها باید با لایه ای از هیدروکسید کلسیم (آهک) و سپس لایه ای از خاک به ضخامت حداقل ۴۰cm پوشانده شود.

عمل آوری: لاشه هایی که قرار است عمل آوری شوند باید توسط وسیله مناسبی که کاملاً بدون نشت می باشد بارگیری شوند. این لاشه ها باید در تأسیسات خاص تعیین شده توسط مراجع، جهت عمل آوری مواد عفونی فرآوری شوند.

۷. معدوم کردن مواد آلوده

فضولات، مواد آلی و تمام مواد غیر قابل ضد عفونی موجود در مزرعه باید نابود شوند. به خصوص بستر، تخم مرغ ها، پوشال ها، غذای ذخیره شده، پر ها و شانه های تخم مرغ باید معدوم گردند.

● **بستر:** بسته به مقدار موجود و خصوصیات و شرایط فارم، می توان بستر را با لاشه پرنده ها در گودال دفن نمود و یا در محلی کپه کرد تا دچار پختگی شود. بستر کپه شده باید توسط یک لایه پلاستیک مقاوم نظیر آنچه در بخش «مدیریت همه گیری» عنوان شد، پوشانیده شود. در تمام موارد، بستر آلوده نباید قبل از کپه شدن و پختگی از مزرعه خارج شود.

● **تخم مرغ ها:** می توانند با لاشه ها دفن شوند و یا عمل آوری شوند.

● **پوشال:** پوشال را می توان با اسپری یک ماده ضد عفونی کننده فعال در سطح آن ضد عفونی کرد و بعد از جمع کردن در یک محل توسط یک لایه پلاستیک مقاوم پوشاند. توده پوشانده شده باید حداقل ۴۲ روز جهت عفونت زدایی کامل باقی بماند. ولی با در نظر گرفتن اهمیت زمان بهتر است آن را کاملاً سوزاند و تبدیل به خاکستر کرد.

● **غذای باقیمانده:** غذای باقیمانده در مزرعه آلوده باید با گاز ضد عفونی شده و بعد از آن سوزانده و به خاکستر تبدیل شود.

۸. ضد عفونی تأسیسات آلوده:

لیستی از موارد و کاربردهای ضد عفونی تأسیسات آلوده در زیر گزارش شده است:

۱۰. اعمال مدیریت در همه گیری

- تمام واحدهایی که به طور فیزیکی یا عملی با هم در ارتباط هستند (نظیر هجری، اتاق انبار تخم مرغ، اتاق بسته بندی، گاری حمل تخم مرغ، تجهیزات فرآوری تخم مرغ) باید به طور صحیحی ضد عفونی شوند.
- وسایط نقلیه مورد استفاده برای حمل و نقل پرنده های زنده، تخم مرغ و غذای پرندگان باید ضد عفونی شوند.
- شستشو و ضد عفونی دیوارها، سقف و کف تأسیسات آلوده باید به طور کامل انجام شود و با شستشو و برطرف کردن کامل تمام مواد آلی همراه باشد. وسایل فلزی نظیر قفس ها را می توان با حرارت دادن ضد عفونی کرد.
- تمام تجهیزات داخل سالن ها نظیر آبخوری ها و انواع دانخوری ها باید شستشو شده و با استفاده از یک ضد عفونی کننده حداقل برای ۴۸ ساعت ضد عفونی شوند.
- تمام مخازن آب باید خالی، شسته و ضد عفونی شوند.
- سیلوها و انبارهای دان باید خالی گردند، با آب گرم پر فشار شسته شوند و بعد گاز داده شوند.
- تمام قسمت های واحد درگیر بعد از شستشو و ضد عفونی باید دوبار به فاصله دو هفته گاز داده شوند، لیستی از ضد عفونی کننده های مؤثر بر ویروس و غلظت مناسبی از آن ها جهت ضد عفونی در ذیل بیان شده است:

- هیپوکلریت سدیم: محلول کلراین فعال ۲٪ (ضد عفونی تجهیزات)؛
- نمک های آمونیم چهار ظرفیتی: محلول ۴٪ (ضد عفونی دیوارها، کف ها، سقف ها و تجهیزات)؛
- پراوکسون سولفات پتاسیم + اسید سولفامید + سولفات سدیم الکیل بنزن: به شکل محصول آماده مصرف (ضد عفونی دیوارها، کف ها، سقف ها و تجهیزات)،
- هیدروکسید کلسیم: محلول ۳٪ (ضد عفونی دیوارها و کف ها)؛
- اسید کرومیک: محلول ۲/۲٪ (ضد عفونی کف ها)؛
- فنل های صنعتی: محلول ۲٪ (ضد عفونی کف ها)؛
- فرمالین و پرمنگنات: گاز دادن.

۹. تعداد سوآب هایی که باید در مزارع مشکوک به آنفلوآنزای پرندگان اخذ گردد:

سوآب های کلوآکی باید حداقل از ۳۰ قطعه پرنده اخذ گردد، بدین ترتیب در صورتی که شیوع دفع مدفوعی ویروس بالای ۰/۱ باشد، تشخیص عفونت با سطح اطمینان برابر با ۹۵٪ ممکن خواهد بود. سوآب کلوآکی

در این بخش، به بررسی اقدامات مدیریتی در مواجهه با همه گیری می پردازیم. در ابتدا، به بررسی اهمیت مدیریت در مواجهه با بحران می پردازیم. سپس، به بررسی اقدامات مدیریتی در مواجهه با بحران می پردازیم. در ادامه، به بررسی اقدامات مدیریتی در مواجهه با بحران می پردازیم. در نهایت، به بررسی اقدامات مدیریتی در مواجهه با بحران می پردازیم.

آفلوانزای پرندگان

آفلوانزای پرندگان، یک بیماری ویروسی است که در پرندگان ایجاد می شود. این بیماری می تواند باعث مرگ پرندگان شود. در این بخش، به بررسی اقدامات مدیریتی در مواجهه با آفلوانزای پرندگان می پردازیم. در ابتدا، به بررسی اهمیت مدیریت در مواجهه با بحران می پردازیم. سپس، به بررسی اقدامات مدیریتی در مواجهه با بحران می پردازیم. در ادامه، به بررسی اقدامات مدیریتی در مواجهه با بحران می پردازیم. در نهایت، به بررسی اقدامات مدیریتی در مواجهه با بحران می پردازیم.

پرسشنامه اپیدمیولوژی

(ضمیمه ۱)

فرم ارسال نمونه

(ضمیمه ۲)

ضمیمه شماره ۱

آنفلوآنزای پرندگان
پرسشنامه اپیدمیولوژی

تاریخ...../...../.....

دکتر..... شماره تلفن.....

مشکوک تعداد.....

تأیید شده تعداد.....

نام مجموعه درگیر

آدرس..... شماره تلفن.....

استان..... شهرستان..... بخش.....

کد مزرعه یا شماره شناسایی □□□ □□ □□□

مالک.....

شرکت.....

آدرس مالک.....

تلفن.....

اطلاعات فوق توسط چه کسی تهیه شده است.....

.....

دامپزشک مزرعه دکتر..... حاضر بوده است ☐ خیر ☐ بله ☐

اطلاعات مربوط به مزرعه

نوع تأسیسات مجموعه:

☐ صنعتی ☐ روستایی ☐ عامل ☐ خرده پا

گروه / نوع تولید: تخم‌گذار تجاری ☐ پرنده گوشتی ☐

نوع: ☐ اجداد

☐ مادر

☐ پولت

☐ جوجه گوشتی

☐ تخم‌گذار

ضمیمه شماره ۱

مشخصات و تعداد نژادها و گونه های حاضر در مجموعه

مرغ	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	تخم گذار ☐ تعداد.....
بوقلمون	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
مرغ شاخ دار	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
اردک	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
کبوتر	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
قرقاول	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
غاز	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
شتر مرغ	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
بلدرچین	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
کبک	☐ گوشتی	تعداد.....	مادر ☐ تعداد.....	
سایر موارد				

تاریخ جوجه ریزی/...../..... جنس: سن
/...../..... جنس: سن

جوجه کشی مبدأ

هجری مربوط به شرکت می باشد ☐ خیر ☐ بلی ☐
 شرکت..... آدرس..... تلفن.....
 استان..... شهرستان..... کد.....
 شماره تلفن..... فکس.....

عملیات نوک چینی: تاریخ/...../.....
 گروه اجرا کننده: ☐ اعضاء خانواده ☐ گروه تحت استخدام ☐ گروه مستقل کارمزدی
☐ سایر موارد.....

توضیحات.....

ضمیمه شماره ۱

سیستم سالن‌ها

..... تعداد	☐ خیر	اتاقک
..... تعداد	☐ بله	
..... تعداد	☐ خیر	سوله‌ها
..... تعداد	☐ بله	

نوع سیستم تهویه:

- ☐ طبیعی
- ☐ طبیعی همراه با فن
- ☐ کاملاً ماشینی

سیستم پرورش آزاد ☐ خیر ☐ بله

سیستم ممانعت از ورود پرندگان وحشی به آشیانه: ☐ خیر ☐ بله

احتمال تماس با پرنده‌های وحشی وجود دارد:

گونه: ☐ خیر ☐ بله

سایر پرنده‌های حاضر در محل (محصور یا آزاد)

گونه: ☐ خیر ☐ بله

آیا استخر یا دریاچه در مجموعه حضور دارد:

سایر منابع آب ☐ خیر ☐ بله

حضور خوک ☐ خیر ☐ بله

سایر حیوانات ☐ خیر ☐ بله

ملاحظات

ضمیمه شماره ۱

سایر اطلاعات مورد نیاز:

۱. نقشه توپوگرافی مجموعه

نقشه ای از تأسیسات آلوده شده شامل واحدهای تولیدی و تأسیساتی مجموعه، حیوانات موجود در سالن ها و راه های اصلی دسترسی به داخل مجموعه باید ترسیم شود.

اطلاعات مربوط به ورود/گسترش عفونت: اطلاعات ضروری درخصوص موارد الف، ب، ج و غیره در ارتباط با تردد حیوانات/ افراد و سایر موارد باید جمع آوری شود و در صورت نیاز برای هر مورد تردد ذکر گردد.

۲. تردد پرندگان: اطلاعات مورد نیاز

الف. ورود پرندگان از سایر تأسیسات/جوجه کشی ها/مزارع ☐ خیر ☐ بله

(از ۲۰ روز قبل از شروع اولین علائم بالینی)

تاریخ:/...../..... تعداد: گونه: مزرعه ☐ جوجه کشی ☐

نام مزرعه: کد ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

آدرس: شماره تلفن:

استان: شهرستان: بخش:

ب. ورود پرندگان از نمایشگاه ها / بازار مصرف / بازارهای محلی ☐ خیر ☐ بله

(از ۲۰ روز قبل از شروع اولیه علائم بالینی)

تاریخ:/...../..... تعداد: گونه:

مبدأ: بازارهای محلی ☐ بازار مصرف ☐ نمایشگاه ☐

استان: شهرستان: بخش:

ج. خروج پرندگان/تخم مرغ ها به مقصد/مزارع/تأسیسات/جوجه کشی ها/کشتارگاه ها ☐ خیر ☐ بله

(طی فاصله زمانی بین ۲۰ روز قبل از شروع اولین علائم بالینی و تاریخ اجرای قرنطینه مزرعه)

تاریخ:/...../..... تعداد: گونه:

مقصد: سایر مزارع ☐ جوجه کشی ☐ کشتارگاه ☐ سایر موارد:

نام تأسیسات مقصد: کد ☐ ☐ ☐ ☐ ☐

آدرس: شماره تلفن:

استان: شهرستان: بخش:

ضمیمه شماره ۱

د. خروج پرندگان / تخم مرغها به سایر بازارهای محلی/بازار مصرف / نمایشگاهها خیر ☐ بله ☐
(طی فاصله زمانی بین ۲۰ روز قبل از شروع اولین علائم بالینی و تاریخ شروع قرنطینه مزرعه)
تاریخ...../...../..... تعداد..... گونه.....
مقصد: بازار محلی ☐ بازار مصرف ☐ نمایشگاه ☐ سایر موارد.....
نام مزرعه..... کد
آدرس..... شماره تلفن.....
استان..... شهرستان..... بخش.....

۳. تردد افراد: به عنوان راه احتمالی ورود یا گسترش و انتشار عفونت (طی فاصله زمانی بین ۲۰ روز قبل از شروع اولین علائم بالینی و تاریخ شروع قرنطینه مزرعه) خیر ☐ بله ☐
تاریخ...../...../..... نام و نام خانوادگی.....
دامپزشک ☐ تکنسین ☐ گروه واکسیناسیون ☐ نوکچین ☐
سایر مرغدارها ☐ سایر موارد ☐
آدرس..... شماره تلفن.....
استان..... شهرستان..... بخش.....
شماره تلفن.....
مزرعه ای که قبلاً ویزیت شده است: نام.....
استان..... شهرستان..... بخش.....

(الف) حمل و نقل حیوانات، (ب) حمل و نقل خوراک، (ج) حمل و نقل تخم مرغ، (د) حمل و نقل تلفات مرغداری‌ها، (ه) سوخت/گاز، سایر موارد (توضیح: طی فاصله زمانی بین ۲۰ روز قبل از شروع اولین علائم و تاریخ شروع قرنطینه مرغه)

[illegible]

ضمیمه شماره ۱

الف. هرگونه ارتباط غیرمستقیم با مجموعه‌های پرورش طیور وجود داشته است؟ ☐ خیر ☐ بلی
(هرگونه به اشتراک گذاشته شدن تجهیزات و وسایل، وسایط نقلیه، کارکنان و غیره طی فاصله زمانی بین ۲۰ روز قبل از شروع اولین علائم بالینی و تاریخ شروع قرنطینه مزرعه)

تاریخ ارتباط...../...../..... نام مزرعه یا مجموعه پرورشی
کد □□□□ □□ □□□□

آدرس.....
استان..... شهرستان..... بخش.....
گونه‌های حاضر در مزرعه.....تعداد.....
☐ وسایط نقلیه مشترک ☐ خوراک مشترک ☐ تجهیزات مشترک ☐ کارکنان مشترک ☐ مصرف مجدد بستر ☐ سایر موارد.....

وجود مزارع متعدد تحت مدیریت یک مالک ☐ خیر ☐ بلی
نام مزرعه یا مجموعه پرورشی.....
کد □□□□ □□ □□□□

آدرس.....
استان..... شهرستان..... بخش..... فاصله (متر).....
گونه‌های حاضر در مزرعه.....تعداد.....
خالی ☐ پر ☐

مزارع واقع در مجاورت مرکز وقوع همه‌گیری ☐ خیر ☐ بلی
نام مزرعه یا مجموعه پرورشی.....
کد □□□□ □□ □□□□

آدرس.....
استان..... شهرستان..... بخش.....
گونه‌های حاضر در مزرعه.....تعداد.....
خالی ☐ پر ☐

تاریخچه بیماری

مرگ و میر هفتگی

دقت: کلیه اطلاعات پیرامون میزان مرگ و میر گزارش شده طی ۶ هفته قبل از شروع علائم بالینی.

تعداد حیوانات تلف شده	هفته	
	از	تا

توضیحات:

.....

.....

.....

.....

تاریخ شروع علائم بالینی آنفلوآنزای پرندگان/...../.....

علائم بالینی مشاهده شده توسط مرغان:

.....

.....

.....

تعداد کل پرنده‌های مزرعه تحت قرنطینه (تلف شده یا زنده)	تعداد پرنده‌های بیمار (مزرعه تحت قرنطینه)	تعداد پرنده‌های تلف شده (مزرعه تحت قرنطینه)	تعداد پرنده‌های تخلیه شده (مزرعه تحت قرنطینه)

دقت: مطالب این جدول باید به اطلاعات جمع آوری شده در زمان قرنطینه مزرعه به علت مرگ و میر و شیوع علائم مشکوک به آنفلوانزای پرندگان اشاره داشته باشد.

واکسیناسیون پرنده‌ها

برنامه معمول واکسیناسیون:	نوع واکسن (۱)	نام تجاری واکسن	طریقه مصرف	بله ☐ خیر ☐
تاریخ واکسیناسیون	/...../.....			
...../...../.....				
...../...../.....				
...../...../.....				
...../...../.....				

(۱) زنده یا کشته

افراد مجری واکسیناسیون

خانواده ☐ کارکنان استخدامی ☐ گروه مستقل کارمزدی ☐ سایر موارد.....

توضیحات:.....

مصرف دارو / دارودرمانی

طی بازده روز گذشته: ☐ خیر ☐ بله (توضیحات):

.....
.....
.....

افرادی که دارو درمانی را در سالن‌ها انجام داده‌اند:

افراد خانواده ☐ افراد استخدام شده ☐ گروه مستقل کارمزدی ☐ سایر موارد.....

توضیحات:.....

فرم ثبت یافته‌های بالینی و کالبدشکافی
فرم بررسی بالینی (باید برای هر یک از گونه‌ها پر شود)

گونه.....

بی حالی ☐

علائم تنفسی: خفیف ☐

شدید ☐

کاهش تولید یا قطع تخم‌گذاری ☐

ادم، سیانوز یا خونریزی جلدی ☐

اسهال ☐

علائم عصبی ☐

سایر موارد ☐

فرم بررسی کالبدشکافی (باید برای هر یک از گونه‌ها پر شود)

رینیت و سینوزیت ☐

تراکیت ☐ کاتارال

هموراژیک ☐

التهاب کیسه‌های هوایی ☐

خونریزی در ☐ اپی‌کاردیوم

☐ اندوکاردیوم

☐ پیش معده

☐ فولیکول‌های تخمدانی

آنتریت ☐ کاتارال

☐ هموراژیک

پانکراتیت ☐

سایر موارد.....

ملاحظات.....

.....

.....

امضاء

.....

فرم ارسال نمونه آزمایشگاهی
آنفلوآنزای پرندگان

استان..... شهرستان..... بخش.....
دامپزشک.....
شماره تلفن..... فکس..... شماره تلفن جهت تماس ضروری.....
تاریخ...../...../.....

مزرعه:..... استان..... شهرستان.....
کد یا شماره شناسایی □□□□ □□ □□□□
مالک.....
آدرس کامل.....

گونه و گروه تولیدی

□ بوقلمون مادر	تعداد.....	□ بوقلمون گوشتی	تعداد.....
□ مادر گوشتی	تعداد.....	□ مادر تخم‌گذار	تعداد.....
□ تخم‌گذار	تعداد.....	□ جوجه گوشتی	تعداد.....
□ سایر گونه‌ها (توضیح).....			

واکسینه علیه آنفلوآنزای پرندگان خیر □ بله □ ← تعداد دفعات واکسیناسیون.....

نمونه‌های جمع‌آوری شده (از/برای)

□ وقوع مشکوک ← تاریخ اطلاع.....
□ وقوع تأیید شده
□ مزرعه‌ای که از نظر اپیدمیولوژی در ارتباط با وقوع بیماری است ← نام و شماره کد مزرعه.....
.....
□ مزرعه واقع در ناحیه محافظتی ← نام و شماره کد مزرعه.....
□ مزرعه واقع در ناحیه نظارت و مراقبت ← نام و شماره کد مزرعه.....
□ بررسی تردد حیوانات
□ برنامه مونتورینگ
□ سایر موارد.....

۱۰. اعمال مدیریت در همه گیری

تاریخچه بیماری				
گونه و گروه تولیدی	شروع علائم بالینی	علائم بالینی	درصد مرگ و میر	از / تا
.....				
.....				
.....				
.....				

گونه	نمونه های جمع آوری شده	تعداد نمونه ها	جهت ردیابی	
			آنتی بادی	ویروس
.....			☐	☐
.....			☐	☐
.....			☐	☐
.....			☐	☐

مشخصات نمونه		
شماره سالن	گونه	نمونه های جمع آوری شده

امضاء

.....

روش‌های تشخیص

تصاویر ۹۳ تا ۱۰۶

تشخیص آزمایشگاهی

خلاصه‌ای از روش‌های تشخیص در زیر آورده شده است، به هر حال شرح کامل پروتکل‌های تشخیصی در دستورالعمل EEC/۹۲/۴۰ (بخش قوانین اتحادیه اروپا) آمده است.

بررسی‌های ویروس‌شناسی

جداسازی و تعیین هویت ویروس

نمونه‌های اخذ شده جهت جداسازی ویروس باید در دمای $+4^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی‌گراد تا ۴۸ ساعت نگهداری شوند و برای نگهداری طولانی‌تر باید هموژنیزه شده و در دمای -80°C درجه سانتی‌گراد قرار گیرند. نگهداری در دمای -20°C درجه سانتی‌گراد مناسب نیست. نمونه‌های ریه، نای و روده از حداقل ۵۰ پرندۀ تازه تلف شده یا در حال مردن که به دست انسان کشته شده‌اند جمع‌آوری می‌گردند. نمونه‌های ریه و نای با هم ولی جدا از نمونه‌های روده جمع‌آوری می‌گردند. به طور خلاصه مخلوط $10\text{W}/\text{v}$ ٪ نمونه‌های اندام‌ها با محلول PBS آنتی‌بیوتیک‌دار هموژنیزه می‌گردد و بعد از غربال شدن به فضای آلانتوئیک تخم مرغ‌های جنین‌دار SPF استاندارد تزریق می‌شود (تصاویر ۹۳، ۹۴ و ۹۵).

مایع آلانتوئیک جمع‌آوری شده از جنین‌های مرده یا جنین‌های منتقل شده به یخچال با استفاده از محلول $1\text{V}/\text{V}$ ٪ گلبول قرمز مرغ در تست هماگلوتیناسیون به روی پلیت (تصاویر ۹۶، ۹۷، ۹۸ و ۹۹) و نیز تست هماگلوتیناسیون استاندارد (تصویر ۱۰۰) بررسی می‌گردند. دو سری پاساژ کوردر مورد هر کدام از نمونه‌ها انجام می‌گیرد.

تعیین هویت عوامل هماگلوتیناسیون‌کننده

مایع آلانتوئیک مربوط به جنین‌هایی که طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت بعد از تلقیح تلف شده‌اند جهت

تشخیص آلودگی باکتریایی با روش‌های معمول تست می‌شوند.

جهت تعیین هویت ویروس، تست‌های ممانعت از هم‌اگلوتیناسیون (HI) و آگار ژل ایمنودیفریون مطابق با روش بیان شده در دستورالعمل شماره ۹۲/۴۰/EEC انجام می‌شود. تحت تیپ هم‌اگلوتینین (H) و نورآمینیداز (N) با استفاده از آنتی‌سرم‌های پلی‌کلونال مرغ مطابق با روش Alexander و Spakman (۳) تعیین می‌گردد.

تعیین پاتوژنیستی جدایه‌ها

حدت جدایه‌ها به روش تعیین ضریب بیماری‌زایی داخل سیاهرگی (IVPI) با تلقیح محلول رقیق شده ۱ به ۱۰ مایع آلتوتوئیک عفونی به جوجه مرغ‌های SPF شش هفته اندازه‌گیری می‌گردد. براساس دستورالعمل شماره ۹۲/۴۰/EEC پرندوها روزانه جهت جستجوی علائم بالینی و مرگ و میر مورد مشاهده قرار می‌گیرند.

آنالیز توالی اسیدهای آمینه ناحیه شکافتگی هم‌اگلوتینین

این روش بر تعیین توالی اسیدهای آمینه ناحیه شکافتگی ملکول هم‌اگلوتینین براساس تعیین توالی ژنوم ویروس استوار است. بنابراین می‌توان مشخص کرد که آیا اسیدهای آمینه بازی متعدد در ناحیه شکافتگی حضور دارند و یا نه و در نهایت تعیین کرد که آیا ویروس حاد می‌باشد یا خیر (بخش ۳ را ملاحظه نمایید). به طور خلاصه با استفاده از کیت‌های تجاری استخراج و یا روش‌های استاندارد استخراج، RNA اسیدنوکلئیک جدایه‌ها استخراج می‌گردند.

با استفاده از پرایمرهای خاص ژن هم‌اگلوتینین (در این مورد H7)، ناحیه‌ای در حدود ۷۰۰bp با روش RT-PCR تکثیر می‌گردد، سپس cDNA به دست آمده سکانس می‌شود و توالی اسیدهای آمینه این ناحیه براساس توالی نوکلئوتیدهای cDNA حاصل، استنتاج می‌گردد (۲۰، ۲۱، ۲۲).

آزمون تشکیل پلاک

این آزمون به طور سنتی جهت تعیین توان ویروس‌های آنفلوآنزا در ایجاد پلاک بر روی لایه سلولی با و یا بدون حضور تریپسین انجام می‌گیرد. زیرا این قابلیت یکی از خصوصیات ویروس‌های HPAI می‌باشد (بخش ۳ را ملاحظه نمایید). توضیح مختصری از این روش در زیر آورده شده است.

۱۱. روش‌های تشخیص

لایه سلولی کامل شده (MDCK^۱، CEF^۲ و یا سلول‌های دیگر) در پلیت‌های ۶، ۱۲ یا ۲۴ گوده‌ای قبل از آلوده‌سازی با ویروس ۳ بار در MEM^۳ شسته می‌شوند. سپس توسط رقت‌های ده‌تایی از ویروس تحت آزمایش تهیه شده با محیط نگهدارنده معمولی و نیز محیط دارای تریپسین به میزان ۵mg/ml آلوده می‌شوند. بعد از آن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷°C جهت جذب مایع افزوده شده رها می‌شود و طی این مدت انکوباسیون، جهت تسهیل و کمک به گسترش مطلوب مایع تلقیح شده، محیط‌های کشت به آرامی تکان داده می‌شوند. متعاقباً کشت‌های سلولی با محیط نگهدارنده حاوی ۱٪ آگاروز پوشانده می‌شوند و به صورت وارونه در دمای ۳۷°C به مدت ۹۶ ساعت انکوبه می‌گردند. پلیت‌ها از انکوباتور خارج می‌شوند و با فرمالین خنثای ۱۰٪ ثابت می‌گردند و بعد از خارج کردن دیسک آگار با کریستال ویوله ۱٪ برای ۳۰ دقیقه رنگ‌آمیزی می‌گردند (تصویر شماره ۱۰۱).

میکروسکوپ الکترونی

مایع رویی حاصل از سوسپانسیون نمونه‌های بافتی و یا مایع آلتوتئیک با استفاده از فیلتر یکبار مصرف ۰/۴۵mm فیلتر می‌گردند. سپس نمونه‌ها با استفاده از صفحه مسی دارای ۲۰۰ روزن با دور ۸۰۰۰۰g برای ۱۰ دقیقه اولتراسانتریفیوژ می‌شود. به دنبال انجام اولتراسانتریفیوژ صفحه گرید برای ۳۰ ثانیه با محلول اسید فسفوتانگستیک^۴ رنگ‌آمیزی می‌گردد (تصویر ۱۰۵) و در اتاق خشک می‌شود و با بزرگ‌نمایی ۳۰۰۰۰ مشاهده می‌گردد. ذرات ویروسی پلئومورفیک و گاهی رشته‌ای می‌باشند و ۸۰-۱۲۰ نانومتر اندازه دارند (تصویر ۱۰۶).

سرولوژی

تست ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

آزمایش HI می‌تواند آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه آنتی‌ژن هماگلوتینین ویروس را شناسایی کند بنابراین برای شناسایی تحت تیپ کاربرد دارد.

این آزمایش برای اکثر گونه‌ها مناسب می‌باشد، با وجود این برای حذف هماگلوتینین‌های

1. Madin-Darby Canine Kidney

2. Chicken Embryo Fibroblast

3. Minimal Essential Medium

4. Phosphotungstic acid

غیراختصاصی، سرم حاصل از پرندگان غیر از مرغ باید تیمار شوند. معمولاً این عمل با استفاده از تعلیق ۱۰٪ گلبول قرمز مرغ انجام می‌گیرد. سرم‌های برخی از گونه‌ها (برای مثال شترمرغ) قبل از انجام آزمایش توسط سوسپانسیون گلبول قرمز مرغ غیرفعال و آماده‌سازی می‌گردد.

این آزمایش با استفاده از مایع آلائتوتیک حاوی ویروس زنده یا غیرفعال شده آن به عنوان منبع آنتی‌ژن انجام می‌گیرد و ۴ تا ۸ واحد HA در این آزمایش به کار می‌رود. رقت‌های با توان ۲ تایی سرم‌ها در پلیت‌های ۹۶ گوده‌ای آماده می‌شوند سپس آنتی‌ژن هم‌گلویتینین و بعد از آن سوسپانسیون ۱٪ گلبول قرمز مرغ اضافه می‌گردد.

سپس پلیت آماده شده در دمای 4°C به مدت ۳۰ تا ۴۰ دقیقه رها می‌گردد و بعد از آن برای مشخص کردن گوده‌ای که در آن رقت، سرم تحت آزمایش از فعالیت هم‌گلویتیناسیون آنتی‌ژن ممانعت کرده است، مورد مشاهده قرار می‌گیرد.

وجود ممانعت از هم‌گلویتیناسیون به راحتی با کج کردن پلیت و مشاهده جریان یافتن گلبول‌های قرمز قابل تشخیص است که با الگویی شبیه به گوده کنترل گلبول قرمز صورت می‌گیرد (تصاویر ۱۰۲ و ۱۰۳).

تست آگار ژل پرسپیانتاسیون (AGP)

این تست قادر به تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد ویروس آنفلوآنزای تیپ A و اختصاصی گروه می‌باشد. این قسمت برای اکثر گونه‌های پرندگان به غیر از پرندگان آبری مناسب است.

آنتی‌ژن اخذ شده از غشای کوریوآلائتوتیک تخم‌مرغ‌های جنین‌دار در چاهک مرکزی که توسط چاهک‌های اطرافی احاطه شده، ریخته می‌شود، چاهک‌ها توسط قالب فلزی ۷ گوده‌ای در محیط آگار ۱/۲۵٪ ایجاد می‌گردند.

در جنب هر گوده حاوی سرم تحت آزمایش، در یک گوده سرم شاهد مثبت ریخته می‌شود به طوری که سرم‌های تحت آزمایش مابین سرم‌های کنترل مثبت قرار می‌گیرد. بدین ترتیب سرم‌های تحت آزمایش در تماس با سرم‌های مثبت و آنتی‌ژن مرکزی قرار می‌گیرند.

در صورت مشاهده باند رسوبی مابین سرم تحت آزمایش و آنتی‌ژن، پاسخ مثبت به دست آمده است. باند رسوبی باید در ادامه باند رسوبی مابین آنتی‌سرم کنترل مثبت و آنتی‌ژن قرار گیرد (تصویر ۱۰۴).

هیستوپاتولوژی و ایمنو هیستوشیمی

نمونه‌های بافتی اخذ شده بلافاصله در فرمالین ۱۰٪ خنثی (توسط بافر فسفات) فیکس می‌گردند. سپس نمونه‌های بافتی در پارافین قالب‌گیری می‌گردد و برش‌های نازک سه میکرونی تهیه می‌گردد و با رنگ هماتوکسیلین انوزین رنگ‌آمیزی می‌شود.

برش‌های رنگ‌آمیزی نشده‌ای نیز جهت بررسی حضور نوکلئوپروتئین آنفلوآنزای تیپ A توسط روش‌های ایمنو هیستوشیمی آزمایش می‌گردد. آنتی‌بادی مورد استفاده در این آزمایش یک آنتی‌بادی مونوکلونال ضد نوکلئوپروتئین تیپ A ویروس آنفلوآنزا است (تهیه شده توسط Dr. D.E. Swayne, SEPRL, USDA, Athens, GA, USA).

به‌طور خلاصه، مرحله بازیافت آنتی‌ژن با پخت تحت فشار در بافر سیترات به مدت ۲۵ دقیقه با pH برابر با ۶ انجام می‌شود و آنتی‌بادی‌های مربوطه در رقت ۱/۲۰۰۰ اضافه می‌گردد و از سیستم‌های شناسایی یا En Vision™ AP (DAKO K1396, Carpinteria, CA) یا PX (DAKO K4000) و از Nuclear Fast Red (DAKO K1396) یا

3,3'-diaminobenzidine (DAB) tetrahydrochloride (D-5905, Sigma, St. Louis, MO)

به ترتیب به عنوان کروموزن^۱ استفاده می‌شود.

برش‌ها به روش هماتوکسیلین مایرز^۲ رنگ‌آمیزی مخالف^۳ می‌شود.

1. Chromogen

2. Mayer's Haematoxylin

3. Counterstain

قوانین مصوبه اتحادیه اروپا

[<http://www.europa.eu.int/eur-lex/>]

دستورالعمل شورایی شماره EEC/۹۲/۴۰ تاریخ ۱۹ می ۱۹۹۲ شامل اقدامات قابل اجرا توسط جامعه اروپا جهت کنترل آنفلوآنزای طیور
Official Journal L 167, 22/06/1992 p.0001-0016

شورای جوامع اروپایی

با توجه به عهدنامه جامعه اقتصادی اروپا به خصوص ماده ۴۳ آن، با توجه به طرح کمیسیون مربوطه (۱)، با توجه به نظر پارلمان اروپا (۲) و با توجه به نظر کمیته اقتصادی اجتماعی (۳)، و اینکه خرید و فروش در صنعت طیور در ضمیمه ۲ عهدنامه قرار دارد، نظر به اینکه خرید و فروش طیور منبع درآمد مهمی در اقتصاد کشاورزی است؛

نظر به لزوم توجه به تدوین تمهیدات کنترلی قابل اجرا در سطح جامعه اروپا در صورت وقوع شکل بسیار حاد آنفلوآنزای پرندگان حاصل از ویروس آنفلوآنزا با اختصاصات خاص خود که از این به بعد تنها آنفلوآنزای پرندگان خوانده خواهد شد، جهت کسب اطمینان از توسعه ملی صنعت طیور و ارتقاء وضعیت محافظت از طیور در جامعه اروپا؛

نظر به اینکه یک درگیری آنفلوآنزای پرندگان می تواند به یک اپی زوتی تبدیل شود و منجر به مرگ و میر و خسارات زیاد در مقیاس قابل توجه گردد و باعث کاهش شدید و سریع سود حاصل از مرغداری و در نتیجه کل صنعت طیور گردد؛

نظر به این که به محض مشکوک شدن به حضور بیماری باید عکس العمل مناسب شروع گردد به طوری که در هنگام تأیید حضور بیماری اقدامات کنترلی موثر و سریع قابل اجرا باشند؛

نظر به ضرورت جلوگیری از گسترش بیماری به محض وقوع یک درگیری با نظارت دقیق تردد حیوانات و نظارت بر مصرف محصولات در معرض آلودگی و در موارد مقتضی با اجرای واکسیناسیون؛

نظر به این نکته که تشخیص این بیماری باید با همکاری آزمایشگاه های ملی انجام گیرد، هماهنگی مابین

آن‌ها باید توسط آزمایشگاه مرجع اتحادیه تضمین گردد؛

نظر به اینکه اقدامات عمومی مشترک برای کنترل آنفلوآنزای پرندگان زیربنایی برای حفظ استاندارد یکسان در ارتباط با بهداشت حیوانات است.

نظر به ماده ۳ مربوط به مصوبه شورا به شماره ۹۰/۴۲۴/EEC مورخه ۲۶ ژوئن سال ۱۹۹۰ در مورد هزینه‌ها در زمینه‌های دامپزشکی (۴) که در صورت وقوع آنفلوآنزای پرندگان به کار گرفته می‌شود؛ نظر به این نکته که شایسته است وظیفه وضع اقدامات کاربردی ضروری به کمیسیون فوق اعطا شود؛

مصوبه زیر تنظیم شده است:

ماده ۱

این مصوبه اقدامات کنترلی مورد استفاده در موارد واگیری آنفلوآنزای پرندگان در طیور را بدون تعصب نسبت به مفاد پیش‌بینی شده جهت اداره کردن تجارت داخل اتحادیه جامعه اروپا تشریح می‌نماید. این دستورالعمل نباید در مواردی که آنفلوآنزای پرندگان در سایر پرندگان غیر از طیور تشخیص داده شده است به کار گرفته شود؛ گرچه در این مورد هر کشور عضو می‌تواند کمیسیون را از اقدامی که اتخاذ کرده است آگاه نماید.

ماده ۲

هدف از این دستورالعمل به کارگیری شرح ماده ۲ مصوبه اتحادیه اروپا به شماره ۹۰/۵۳۹/EEC مورخ ۱۵ اکتبر ۱۹۹۰ درباره قوانین بهداشت حیوانات در اداره تجارت داخل اتحادیه و واردات طیور و تخم مرغ‌های جنین‌دار (۵) از کشورهای ثالث می‌باشد که باید به طور مناسب و درست به کار گرفته شود.

تعاریف زیر هم باید به کار گرفته شود:

الف. طیور مبتلا به این عفونت عبارتند از هرگونه طیوری که:

- در آن‌ها حضور آنفلوآنزای پرندگان مطابق تعریف آمده در ضمیمه ۱ به طور رسمی و براساس آزمایشات انجام شده توسط یک آزمایشگاه مورد تأیید، تصدیق گردد.
- در موارد وقوع بیماری بعد از گزارش و تأیید مورد اول آنفلوآنزای پرندگان، تنها علائم بالینی یا جراحات بعد از مرگ مربوط به آنفلوآنزای پرندگان دلیل بر حضور بیماری است.

۱۲. قوانین مصوبه اتحادیه اروپا

ب. شک به آلودگی طیور با آنفلوآنزای پرندگان می تواند براساس مشاهده علائم بالینی و یا علائم پس از مرگ مشابه با درگیری های قبلی آنفلوآنزای پرندگان باشد به طوری که به طور منطقی بتوان به حضور این بیماری مشکوک شد و یا می تواند براساس اثبات حضور تحت تیپ های H5 و H7 ویروس A آنفلوآنزا باشد.

ج. هرگونه طیوری که به طور مستقیم یا غیرمستقیم در معرض ویروس آنفلوآنزای پرندگان یا ویروس A آنفلوآنزا تحت تیپ H5 یا H7 قرار گرفته باشد می تواند به عنوان طیور مشکوک به آلودگی تلقی گردد.

د. منظور از مسئول یا مرجع ذیصلاح، مسئول دارای صلاحیت عنوان شده در ماده ۲ (۶) مذکور در دستورالعمل EEC/۴۲۵/۹۰ (۶) می باشد.

ه. منظور از دامپزشک رسمی یا دولتی، دامپزشک تعیین شده توسط مسئول دارای صلاحیت می باشد.

ماده ۳

کشورهای عضو باید از اجبار ارسال فوری گزارش حضور مشکوک آنفلوآنزای پرندگان به مسئول دارای صلاحیت اطمینان حاصل کنند.

ماده ۴

۱. کشورهای عضو باید اطمینان حاصل کنند که در صورت مشکوک شدن به آلودگی با آنفلوآنزای پرندگان یا ابتلا به آن در مرغداری ها، دامپزشکان دولتی بلافاصله بازرسی های رسمی خود را جهت تأیید یا نفی حضور این بیماری آغاز می نمایند و به خصوص نمونه های ضروری جهت آزمایشات آزمایشگاهی گرفته می شود.

۲. به محض گزارش یک مورد مشکوک به عفونت، مسئول دارای صلاحیت باید مجموعه مشکوک را تحت نظارت قرار دهد و حتماً از انجام موارد زیر مطمئن گردد:

الف. گزارش کاملی از تمام رده های طیور موجود در مجموعه مشکوک شامل تعداد طیور تلف شده، تعداد طیور دارای علائم بالینی و تعداد طیور بدون علائم تهیه شود. گزارش مزبور باید مرتباً به روز شود به طوری که پرندگانی که بعداً متولد می شوند و یا می میرند را شامل شود. این گزارش باید تا آخرین تاریخ دوره ای که گله مشکوک محسوب می گردد نگهداری و در هر بازدید مجدداً

بررسی و تکمیل گردد.

ب. تمام طیور موجود در مجموعه باید در همان محل پرورششان نگهداری شوند و یا در محل محصور دیگری به صورت جدا از محیط و بدون تماس با سایر طیور قراردادده شوند.

ج. هیچ گونه طوری به مجموعه وارد و یا از آن خارج نمی شود.

د. تمام نقل و انتقال های:

- افراد، سایر حیوانات و وسایط نقلیه به مجموعه یا از آن،

- گوشت یا لاشه طیور، خوراک حیوانات، تجهیزات، ضایعات، فضولات، بستر و مدفوع یا

هر چیز دیگری که می تواند موجب انتقال آنفلوآنزای پرندگان شود باید با مجوز قانونی

مسئول دارای صلاحیت انجام گیرد.

ه. تخم مرغ ها باید در مجموعه مشکوک نگهداری گردند. به استثنای تخم مرغ هایی که براساس

ماده ۱۶ (۱) دستورالعمل شماره ۸۹/۴۳۷/EEC (۷) مستقیماً به مؤسسه مشخص و مورد تأییدی

جهت تولید و فرآوری محصولات حاصل از تخم مرغ ارسال می گردند. محل تخم مرغ ها باید

تحت مجوز صادره توسط مسئول دارای صلاحیت باشد و مجوز فوق الزامات درج شده در

ضمیمه ۱ را شامل باشد.

و. تمهیدات مناسب جهت ضد عفونی درب ورودی و خروجی هر یک از سالن های پرورش و نیز

درب کل مجموعه اجرا گردد.

ز. پرسشنامه اپیزوتولوژی براساس موارد ماده ۷ پر شود.

۳. در صورت شک به حضور بیماری و تا زمان اعمال و اجرای تمهیدات رسمی درج شده در پاراگراف

۵، مالکین و پرورش دهندگان طیور باید هرگونه اقدام معقول و مناسبی را با اطمینان از پیروی کامل

از مفاد پاراگراف ۲ به غیر از بند (ز) انجام دهند.

۴. مرجع ذیصلاح یا مسئول دارای صلاحیت ممکن است تسهیلات درج شده در پاراگراف ۲ را برای

مجموعه های دیگری به کار گیرد که به دلیل موقعیت مکانی و استقرار آن نسبت به فارم مشکوک و یا

تماس با آن مجموعه، مشکوک به بیماری به حساب می آیند.

۵. تمهیدات درج شده در پاراگراف های ۱ و ۲ تا زمانی که شک به آنفلوآنزای پرندگان توسط

دامپزشکان رسمی یا دولتی منتفی اعلام شود، نباید قطع گردند.

۱. به محض اینکه حضور آنفلوانزای پرندگان در یک مجموعه به طور رسمی تأیید گردید، کشورهای عضو باید اطمینان کسب نمایند که مسئول دارای صلاحیت علاوه بر تمهیدات درج شده در ماده ۴ (۲) دستور انجام موارد زیر را داده است:

- تمام طیور موجود در مجموعه باید بی‌درنگ در محل کشته شوند. تمام طيورى که مرده‌اند یا کشته شده‌اند و تمام تخم‌مرغ‌ها باید معدوم گردند. تمام این عملیات باید به گونه‌ای انجام شوند که خطر انتشار بیماری را به حداقل برساند.
- تمام مواد یا ضایعات نظیر خوراک طیور، بستر یا مدفوع باید معدوم گردند یا به گونه مناسبی تیمار گردند. تیمار مورد نظر که براساس دستورالعمل‌های دامپزشک رسمی یا دولتی اجرا می‌گردد باید انهدام ویروس آنفلوانزای حاضر را تضمین نماید.
- در مواردی که طیور موجود در یک مجموعه طی دوره نهفته متصور برای بیماری به کشتارگاه ارسال شده‌اند، گوشت مرغ حاصل از آن‌ها باید تا جای ممکن پیگیری و بعد از کشف معدوم گردد.
- تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار حاصل در طی دوره نهفته متصور برای بیماری که از مجموعه درگیر خارج شده‌اند باید پیگیری و بعد از کشف معدوم شوند ولی جوجه مرغ‌هایی که از این‌گونه تخم‌مرغ‌ها خارج شده‌اند باید تحت نظارت رسمی قرار گیرند. تخم‌مرغ‌های خوراکی حاصل در طی دوره نهفته متصور برای بیماری که از مجموعه خارج شده‌اند باید تا جای ممکن پیگیری و بعد از کشف معدوم گردند مگر اینکه قبلاً به صورت مناسبی ضدعفونی شده باشند.
- بعد از انجام عملیات درج شده در زیر پاراگراف‌های الف و ب تمام ساختمان‌های مورد استفاده برای اسکان طیور، محیط آن‌ها، وسایط نقلیه مورد استفاده برای حمل و نقل و تمام تجهیزاتی که احتمال آلودگی دارند باید براساس مفاد ماده ۱۱ تمیز و ضدعفونی شوند.
- حداقل تا ۲۱ روز بعد از اجرای عملیات درج شده در زیر پاراگراف (ه) در مجموعه درگیر هیچگونه طيورى نباید به مجموعه وارد گردد.

- پرسشنامه اپیزوتیولوژی باید براساس مفاد مندرج در ماده ۷ تکمیل گردد.
- ۲. مرجع ذیصلاح ممکن است اجرای تمهیدات درج شده در پاراگراف ۱ را به مجموعه‌های مجاور نیز گسترش دهد که براساس مکان و موقعیت استقرارشان نسبت به فارمی که درگیری در آن تأیید شده است یا در اثر تماس با مجموعه مزبور، مشکوک به آلودگی محسوب می‌گردند.

ماده ۶

در مورد مجموعه‌هایی که از دو یا تعداد بیشتری گله پرورشی جدا از هم تشکیل شده‌اند، مرجع ذیصلاح می‌تواند براساس استانداردهای تدوین شده توسط کمیسیون در چارچوب دستورالعمل درج شده در ماده ۲۱، درخصوص الزامات ماده ۵ مواردی را چشم‌پوشی و تعدیل کند. این اقدام در مورد گله‌های سالم آن مجموعه درگیر قابل اجراست ولی به شرط آنکه دامپزشک رسمی تأیید نماید که شرایط به گونه‌ای بوده است که گله‌ها در سالن‌های کاملاً جدا از هم نگهداری و تغذیه می‌گردند به طوری که امکان سرایت ویروس از یک گله به گله دیگر وجود ندارد.

ماده ۷

۱. در پرسشنامه اپیزوتیولوژی باید پاسخ به موارد زیر در نظر گرفته شود.
 - طول مدت زمانی که آنفلوآنزای پرندگان در مجموعه حضور داشته است.
 - منشأ احتمالی درگیری گله به آنفلوآنزای پرندگان و شناسایی مجموعه‌هایی که طیور در حال پرورش در آن‌ها احتمال آلوده شدن یا مبتلا شدن به عفونت با منشأ یکسانی دارند.
 - بررسی تردد افراد، طیور و سایر حیوانات، وسایط نقلیه، تخم مرغ، گوشت و لاشه و هرگونه تجهیزات یا ماده‌ای که احتمالاً حمل ویروس آنفلوآنزای پرندگان توسط آن‌ها به فارم مشکوک و یا از فارم آلوده به سایر فارم‌ها صورت گرفته است.
 ۲. برای ایجاد هماهنگی کامل میان تمام تمهیدات اتخاذ شده و ضروری جهت کسب اطمینان از سرعت اقدامات ریشه‌کنی آنفلوآنزای پرندگان و جهت پر کردن پرسشنامه اپیدمیولوژی باید یک ستاد بحران تأسیس گردد.
- مقررات عمومی مربوط به ستادهای بحران ملی و ستادهای بحران جامعه اروپا توسط اتحادیه اروپا براساس طرح توصیفی ارائه شده از طرف کمیسیون اروپا وضع خواهد شد.

ماده ۸

۱. در موردی که دامپزشک رسمی دلایلی دارد که طیور موجود در یک مجموعه احتمالاً به دلیل تردد افراد، حیوانات یا وسایل و یا به هر طریق دیگر مشکوک به آلودگی هستند، آن مجموعه باید براساس پاراگراف ۲ تحت کنترل رسمی قرار گیرد.

۲. هدف کنترل رسمی باید در جهت تشخیص سریع هر مورد مشکوک به آنفلوآنزای پرندگان، تهیه آمار طیور و مونیتور کردن نقل و انتقالات و در موارد مناسب، انجام اعمال درج شده در پاراگراف ۳ باشد.

۳. هرگاه مجموعه‌ای براساس موارد پاراگراف‌های ۱ و ۲ تحت کنترل دولتی قرار گیرد، مرجع ذیصلاح باید حمل طیور را از این مجموعه به جاهای دیگر به جز انتقال تحت نظارت رسمی به یک کشتارگاه مجاز جهت کشتار فوری ممنوع نماید. قبل از ارائه چنین مجوزی دامپزشکان رسمی باید آزمایش بالینی تمام طیور موجود را جهت رد حضور آنفلوآنزای پرندگان در مجموعه انجام دهند. محدودیت تردد اشاره شده در این بخش باید برای ۲۱ روز از آخرین تاریخ احتمالی آلودگی ایجاد گردد. به هر حال، این محدودیت‌ها باید حداقل برای ۷ روز به کار گرفته شوند.

۴. در مواردی که شرایط اجازه می‌دهد، مرجع ذیصلاح ممکن است اقدامات ارائه شده جهت اقدام در این بخش را تنها برای بخشی از مجموعه و طیور موجود در آن اجرا نماید به شرط آنکه بقیه طیور در سالن‌های کاملاً جداگانه قرار گرفته باشند و به طور جداگانه نگهداری و تغذیه شده باشند.

ماده ۹

۱. به محض تأیید رسمی تشخیص آنفلوآنزای پرندگان، کشورهای عضو باید اطمینان حاصل کنند که مرجع ذیصلاح در اطراف مجموعه مبتلا به عفونت، یک نوار حفاظتی به شعاع حداقل سه کیلومتر در بطن یک نوار نظارت و مراقبت به شعاع ۱۰ کیلومتر به وجود آورده باشد. استقرار این نوارها باید براساس فاکتورهای جغرافیایی، اداری حکومتی، اکولوژی و اپیزوتیولوژی در ارتباط با آنفلوآنزای پرندگان و تسهیلات مونیتورینگ صورت گرفته باشد.

۲. اقدامات به کار گرفته شده در نوارهای حفاظتی باید شامل موارد زیر باشند:

- شناسایی تمام مجموعه‌های دارای طیور در داخل این نوار؛
- ویزیت‌های دوره‌ای به تمام مجموعه‌های دارای طیور، انجام یک آزمایش بالینی از طیور موجود و در صورت لزوم جمع‌آوری نمونه‌هایی برای آزمایش‌های آزمایشگاهی؛ یک گزارش از ویزیت‌ها و اطلاعات به دست آمده باید نگهداری گردد.
- نگهداری تمام طیور در محل پرورش و زندگی‌شان یا در مکان دیگری که بتوانند کاملاً ایزوله باشند.

- استفاده از ابزار مناسب ضد عفونی در ورودی‌ها و خروجی‌های مجموعه؛
 - کنترل تردد اشخاص نگهدارنده طیور، لاشه‌های طیور و تخم‌مرغ‌ها و وسایط نقلیه حمل‌کننده طیور، لاشه‌ها و تخم‌مرغ‌ها در داخل نوار حفاظتی و به عبارت کلی تر، حمل و نقل طیور مگر در مورد حمل در بزرگراه‌ها و حمل با راه‌آهن باید ممنوع گردد.
 - ممنوعیت حمل طیور و تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار از مجموعه‌ای که نگهداری می‌شوند مگر اینکه مرجع ذیصلاح مجوز انتقال صادر کرده باشد.
- I. حمل طیور جهت کشتار فوری به یک کشتارگاه ترجیحاً واقع در ناحیه آلوده یا در صورت عدم امکان آن حمل به کشتارگاه تعیین شده توسط مرجع ذیصلاح در خارج از ناحیه آلوده انجام گیرد. برچسب بهداشتی تهیه شده براساس مفاد ماده ۵ (۱) مطابق با دستورالعمل EEC/۹۴/۹۱ باید بر روی لاشه مرغ‌های کشتار شده الصاق گردد.
- II. در مورد حمل جوجه‌های یکروزه یا پولت‌های آماده تخم‌گذاری به مجموعه‌هایی در داخل نوار نظارت و مراقبت که خالی از طیور هستند، این مجموعه باید تحت کنترل رسمی ارائه شده در ماده ۸ (۲) قرار گیرد.
- III. در مورد حمل تخم نطفه‌دار به هچری تعیین شده توسط مرجع ذیصلاح؛ تخم پرنده‌ها و بسته‌بندی آن‌ها باید قبل از حمل ضد عفونی گردند.
- تردد‌های مجاز اعلام شده در موارد I، II و III باید مستقیماً تحت کنترل رسمی انجام شوند. مجوز این ترددها باید تنها بعد از بازرسی بهداشتی مجموعه توسط دامپزشک رسمی صادر گردد. وسیله نقلیه به کار گرفته شده باید قبل و بعد از استفاده تمیز و ضد عفونی گردد.
- ممنوعیت حمل و پخش بدون مجوز بستر استفاده شده یا کود طیور اعمال گردد.
 - ممنوعیت برگزاری نمایشگاه، بازار و هرگونه نمایش یا سایر تجمعات طیور و سایر پرندگان اعمال گردد.
۳. اقدامات به کار گرفته شده در نوار حفاظتی باید حداقل تا ۲۱ روز بعد از انجام عملیات پاک‌سازی و ضد عفونی اولیه در مجموعه مبتلا به عفونت براساس ماده ۱۱ ادامه یابد. بعد از آن نوار حفاظتی می‌تواند به عنوان نوار نظارت و مراقبت در نظر گرفته شود.
۴. اقدامات به کار گرفته شده در نوار نظارت و مراقبت باید شامل موارد زیر باشد:
- شناسایی تمام مجموعه‌های دارای طیور در داخل این نوار؛

۱۲. قوانین مصوبه اتحادیه اروپا

- کنترل حمل و نقل طیور و تخم مرغ نطفه دار در داخل نوار؛
 - ممنوعیت حمل و نقل طیور به خارج از این نوار طی ۱۵ روز اول مگر حمل و نقل مستقیم به کشتارگاه تعیین شده توسط مرجع ذیصلاح در خارج از نوار نظارت و مراقبت؛ برچسب بهداشتی ویژه تهیه شده براساس مفاد ماده ۳ مطابق با دستورالعمل شماره ۹۱/۴۹۴/EEC باید برای گوشت مرغ حاصله به کار گرفته شود.
 - ممنوعیت حمل و نقل تخم نطفه دار به خارج از نوار نظارت و مراقبت مگر به جوجه کشی تعیین شده توسط مرجع ذیصلاح، در این صورت تخم ها و بسته بندی آنها قبل از حمل باید ضد عفونی گردند.
 - ممنوعیت برگزاری نمایشگاه، بازار و هرگونه نمایش و سایر تجمعات طیور و دیگر پرندگان اعمال گردد.
 - بدون اختلال در پیش بینی های (الف و ب)، حمل و نقل طیور به جز انتقال از طریق بزرگراه ها و راه آهن ممنوع گردد.
۵. تمهیدات به کار گرفته شده در نوار نظارت و مراقبت باید حداقل تا ۳۰ روز بعد از اجرای عملیات پاک سازی و ضد عفونی در مجموعه درگیر با عفونت براساس ماده ۱۱ ادامه یابد. در صورتی که نوارها در قلمرو بیش از یک کشور عضو قرار گرفته باشند مراجع ذیصلاح کشورهای عضو مربوطه باید در جهت استقرار نواحی شرح داده شده در پاراگراف ۱ با یکدیگر همکاری نمایند. به هر حال در صورت لزوم، نوار محافظتی و نوار نظارت و مراقبت باید براساس روند ارائه شده در ماده ۲۱ تعیین گردند.

ماده ۱۰

کشورهای عضو باید اطمینان حاصل نمایند که :

- مراجع ذیصلاح ترتیباتی اتخاذ نموده اند که در راستای آن بتوانند حمل و نقل تخم مرغ ها و طیور را پیگیری نمایند.
- به مالکان و نگهدارندگان طیور حکم شده است که مرجع ذیصلاح را با ارائه اطلاعات درخواست شده در خصوص طیور و تخم های وارد شده و یا خارج شده از مجموعه شان حمایت نمایند.
- تمام افراد دخیل در حمل و نقل و فروش طیور و تخم مرغ ها قادرند اطلاعات مربوط به حمل و نقل

طیور و تخم مرغ‌هایی که توسط آن‌ها حمل شده یا فروخته شده‌اند را به مرجع ذیصلاح ارائه دهند و کلیه جزئیات مورد نیاز در این اطلاعات را لحاظ نمایند.

ماده ۱۱

کشورهای عضو باید اطمینان کسب نمایند که:

- مواد ضدعفونی‌کننده مصرف شده و غلظت مورد نیاز آن‌ها تحت نظارت رسمی دولت براساس خطوط راهنمای زیر رعایت شده است:
- دستور مصرف ارائه شده توسط دامپزشک رسمی؛
- دستورالعمل پاک‌سازی و ضدعفونی مجموعه درگیر با عفونت براساس ضمیمه شماره ۲.

ماده ۱۲

جمع‌آوری نمونه‌ها و انجام تست‌های آزمایشگاهی برای شناسایی حضور ویروس آنفلوآنزا باید براساس ضمیمه شماره ۳ اجرا گردد.

ماده ۱۳

کشورهای عضو باید اطمینان حاصل نمایند که مرجع ذیصلاح جهت در جریان قرار دادن افراد مستقر در نوارهای حفاظتی و نظارت و مراقبت در مورد محدودیت‌های وضع شده و انجام تمام مقررات لازم جهت اجرای درست و مناسب اقدامات، تمام تدابیر ضروری را اتخاذ کرده‌اند.

ماده ۱۴

۱. کشورهای عضو باید اطمینان حاصل نمایند که در محدوده هر کشور عضو موارد زیر تعیین شده‌اند:
 - یک آزمایشگاه ملی که در آن تسهیلات و افراد متخصص باید همیشه آماده ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های ویروس آنفلوآنزا براساس موارد ضمیمه ۲، بخش ۷ و شناسایی تحت تیپ‌های H5 و H7 ویروس‌های A آنفلوآنزا باشند.
 - یک آزمایشگاه ملی جهت تست معرف‌های مورد استفاده در آزمایشگاه‌های ناحیه‌ای؛
 - یک انستیتو یا آزمایشگاه ملی که در آن واکسن‌های دارای مجوز جهت تأیید و اثبات تطابق آن‌ها

۱۲. قوانین مصوبه اتحادیه اروپا

با اختصاصات اعلام شده در مجوزهای بازار مصرف مورد آزمایش قرار گیرند.

۲. آزمایشگاه‌های ملی لیست شده در ضمیمه ۴ باید مسئولیت هماهنگ کردن استانداردها و روش‌های تشخیص، استفاده از معرف‌ها و تست نمودن واکسن‌ها را عهده‌دار باشند.

۳. آزمایشگاه‌های ملی لیست شده در ضمیمه ۴ باید مسئولیت هماهنگ نمودن استانداردها و روش‌های تشخیص ارائه شده در آزمایشگاه‌های ناحیه‌ای تشخیص آنفلوآنزای پرندگان را در محدوده هر یک از کشورهای عضو به عهده بگیرند. برای تحقق این مهم:

- آن‌ها ممکن است معرف‌های تشخیص را به آزمایشگاه‌های ملی ارائه دهند.
- آن‌ها باید کیفیت تمام معرف‌های تشخیصی مورد استفاده در محدوده هر یک از کشورهای عضو را کنترل کنند.

● آن‌ها باید به طور دوره‌ای تست‌های مقایسه‌ای ترتیب دهند.

● آن‌ها باید جدایه‌های ویروس آنفلوآنزا را از موارد تأیید شده در منطقه آن کشور عضو نگهداری نمایند.

● آن‌ها باید از تأیید نتایج مثبت به دست آمده در آزمایشگاه‌های تشخیصی ناحیه‌ای اطمینان حاصل کنند.

۴. آزمایشگاه‌های ملی لیست شده در ضمیمه ۴ باید با آزمایشگاه رفرانس اتحادیه اروپا معرفی شده در ماده ۱۵ در ارتباط باشند.

ماده ۱۵

آزمایشگاه رفرانس جامعه اروپا برای آنفلوآنزای پرندگان در ضمیمه شماره ۵ معرفی شده است. بدون تخطی از مفاد دستورالعمل EEC/۹۰/۴۲۴ و به ویژه ماده ۲۸ آن، توانمندی‌ها و وظایف آزمایشگاه مزبور باید مطابق با موارد مذکور در ضمیمه ذکر شده باشد.

ماده ۱۶

واکسناسیون علیه آنفلوآنزای پرندگان با واکسن‌های دارای مجوز از مرجع ذیصلاح تنها به عنوان تکمیل‌کننده تمهیدات کنترلی به کار گرفته شده در زمان ظهور بیماری و براساس مواد ارائه شده در ذیل اجرا می‌گردد:

الف. تصمیم به کارگیری واکسناسیون جهت تکمیل نمودن تمهیدات کنترلی باید توسط کمیسیون و با

همراهی کشور عضو مربوطه و براساس دستورالعمل آمده در ماده ۲۱ اتخاذ گردد. در این تصمیم‌گیری باید توجه ویژه‌ای به موارد زیر صورت گیرد:

- میزان تمرکز طیور در ناحیه درگیر،
- خصوصیات و ترکیب واکسن مورد مصرف،
- روند حاکم بر نظارت پخش، انبارداری و مصرف واکسن‌ها،
- گونه‌ها و دسته‌های طیوری که باید مورد واکسیناسیون قرار گیرند،
- نواحی که در آن‌ها واکسیناسیون باید اجرا گردد.

به هر حال، با اندکی تعدیل نظر در مورد پاراگراف اول، تصمیم به کار گرفتن واکسیناسیون اورژانس در اطراف ناحیه درگیر ممکن است توسط کشور عضو مربوطه، به دنبال گزارش به کمیسیون اتخاذ گردد به شرط آنکه موارد اساسی مورد نظر جامعه اروپا به خطر نیفتد. این چنین تصمیمی بلافاصله در کمیته دامپزشکی براساس دستورالعمل ارائه شده در ماده ۲۱ مورد بررسی مجدد قرار خواهد گرفت.

ب. هرگاه یکی از کشورهای عضو مطابق با موارد درج شده در بند الف مجوز لازم جهت مصرف واکسن را در بخشی از منطقه مربوطه‌اش دریافت نماید باید تمهیدات لازم را جهت ممانعت از تأثیر این عمل بر روی باقی نواحی اتخاذ نماید به عبارت دیگر در طی دوره تعیین شده مطابق با روند درج شده در ماده ۲۱، تمهیدات مطمئن و مؤثر در ممنوعیت نقل و انتقالات حیوانات واکسینه انجام گیرد.

ماده ۱۷

۱. هر یک از کشورهای عضو باید یک طرح برخورد با رویدادهای پیش‌بینی نشده ترسیم نمایند که در آن طرح اجرای تمهیدات ملی در صورت وقوع واگیری آنفلوانزای پرندگان به صراحت قید شده باشد. در این طرح باید امکان دسترسی به تسهیلات، تجهیزات، پرسنل و تمام سایر مواد مورد نیاز و ضروری جهت ریشه‌کنی مؤثر و سریع واگیری موجود باشد.

۲. استانداردهای مورد نیاز جهت رسم این طرح در ضمیمه شماره ۶ ارائه شده‌اند.

۳. طرح‌های ترسیم شده براساس استانداردهای ارائه شده در ضمیمه ۶ باید حداکثر تا ۶ ماه بعد از به مورد اجرا گذاشته شدن دستورالعمل به کمیسیون تحویل گردد.

۴. کمیسیون باید طرح‌ها را بر این اساس بررسی نماید که آیا آن‌ها می‌توانند اهداف مورد نظر را محقق

۱۲. قوانین مصوبه اتحادیه اروپا

سازند و باید اصلاحیه‌های مورد نیاز را به کشور عضو مربوطه ارائه دهند و به خصوص در جهت تضمین هماهنگی آن‌ها با شرایط سایر کشورهای عضو اقدام نمایند. کمیسیون باید طرح‌ها را براساس روند ارائه شده در ماده ۲۱ تأیید و در صورت لزوم اصلاح نماید. طرح مزبور ممکن است متعاقباً مطابق روند یکسانی با هدف ارتقاء وضعیت، اصلاح یا تکمیل گردد.

ماده ۱۸

۱. متخصصین کمیسیون می‌توانند با همکاری مراجع ذیصلاح برای حصول اطمینان از به‌کارگیری مفاد این دستورالعمل، بازرسی‌هایی را در محل انجام دهند. در جهت انجام این کار، این متخصصین می‌توانند تعدادی از مؤسسات را به عنوان نمونه بررسی نمایند تا مشخص شود که آیا مراجع ذیصلاح الزامات این دستورالعمل را رعایت می‌کنند.

۲. کمیسیون باید نتایج به دست آمده از بررسی‌های انجام شده را به اطلاع کشور عضو برساند. هر یک از کشورهای عضو که بررسی در محدوده آن انجام می‌گیرد، ملزم به همکاری‌های لازم با متخصصین فوق در انجام وظایفشان هستند. مفاد عمومی اجرای این ماده باید براساس طرز عمل ارائه شده در ماده ۲۱ تعیین گردد.

ماده ۱۹

جزئیات شرایط حاکم بر پرداخت‌های مالی جامعه اروپا در جهت اجرای این دستورالعمل در مصوبه ۹۰/۴۲۴/EEC مؤکداً اعلام شده است.

ماده ۲۰

ضمایم ارائه شده در صورت نیاز باید توسط اتحادیه و توسط اکثریت واجد شرایط و براساس طرحی از کمیسیون به ویژه در جهت ارتقاء و توسعه روندهای تحقیق و تشخیص اصلاح گردند.

ماده ۲۱

۱. هرگاه پیگیری روال ارائه شده در این ماده مدنظر باشد، کمیته مطالعاتی دامپزشکی که براساس مصوبه ۹۰/۳۶۱/EEC (۹) تشکیل می‌گردد و از این به بعد تحت عنوان «کمیته» خوانده می‌شود باید

بی‌درنگ توسط رئیس کمیته به صورت پیش‌قدم یا طبق درخواست نماینده کشور عضو در جریان قرار گیرد.

۲. نماینده کمیسیون طی محدوده زمانی اعلام شده توسط رئیس، براساس اضطرار موجود، باید پیش‌نویس خود را به کمیته ارائه دهد. براساس تأیید در ماده ۱۴۸ (۲)، درخواست اخذ حکم از کمیسیون باید بر پایه اکثریت آرای اعضاء متعهد و در قالب ارائه یک پیش‌نویس از طرف انجمن به کمیسیون ارسال گردد. آراء نماینده‌های کشورهای عضو حاضر در کمیته باید براساس روش مذکور در این ماده ارزیابی گردد. رئیس کمیته نباید رأی دهد.

۳. الف. در صورتی که تمهیدات پیش‌بینی شده مطابق با نظر کمیته باشد کمیسیون باید آن‌ها را تصویب نماید.

ب. در صورتی که تمهیدات پیش‌بینی شده مطابق با نظر کمیته نباشد یا اینکه اگر اصلاً نظری ارائه نشده باشد، کمیسیون باید بی‌درنگ طرحی در رابطه با تمهیدات قابل اتخاذ به انجمن ارائه دهد و انجمن باید مطابق با نظر اکثریت واجد شرایط عمل نماید. در صورتی که بعد از اتمام دوره زمانی سه ماهه از تاریخ ارجاع به انجمن اقدامی توسط انجمن صورت نگیرد، تمهیدات ارائه شده باید توسط کمیسیون حکم گردد، مگر در مواردی که انجمن با اکثریت مطلق بر رد تمهیدات پیشنهادی رأی داده باشد.

ماده ۲۲

پیش از اول ژانویه ۱۹۹۳ کشورهای عضو می‌بایست قوانین، آیین‌نامه‌ها و مفاد اجرایی منطبق با دستورالعمل را به اجرا درآورده باشند. آن‌ها باید بی‌درنگ این موارد را به اطلاع کمیسیون برسانند. اتخاذ تمهیدات توسط کشورهای عضو باید با استناد به دستورالعمل باشد و ذکر دستورالعمل و یا موارد مشابه آن باید در اسناد اداری آن‌ها لحاظ گردد. روش استناد به منابع اکیداً به عهده کشورهای عضو است.

ماده ۲۳

این دستورالعمل خطاب به کشورهای عضو می‌باشد.

مصوب ۱۹ می ۱۹۹۲، بروکسل.

از طرف انجمن

ریاست کل Arlindo MARQUES CUNHA

(1) OJ No C 231, 5. 9. 1991, p. 4.(2) OJ No C 326, 16. 12. 1991, p. 242.(3) OJ No C 79, 30.3. 1992, p.8.(4) OJ NO L 224, 18. 8. 1990, p. 19. Decision amended by Desision 91/133/EEC (OJ No L 66, 13. 3. 1991, p. 81).(5) OJ No L 303, 31. 10. 1990, p. 6. Dircitve as last amended by Directive 91/496/EEC (OJ No L 268, 24. 9. 1991, p. 56).(6) Council Directive 90/425/EEC of 26 June 1990 (OJ No L 224, 18. 8. 1990, p. 29); last amended by Directive 91/496/EEC (OJ No L 268, 24. 9. 1991, p. 56). (7) OJ No L 212, 22. 7. 1989, p. 87. Directive as amended by Directive 89/662/EEC (OJ No L 395, 30. 12. 1989, p. 13).(8) OJ No L 268, 24. 9. 1991, p. 35.(9) OJ No L 265, 18. 10. 1968, p. 23.

ضمیمه شماره ۱

شرایط صدور مجوز جهت حمل تخم مرغ از مجموعه درگیر با شرایط مذکور در ماده ۴
(۲) بند (ه) مربوط به این مصوبه

صدور مجوز توسط مرجع ذیصلاح جهت حمل تخم مرغ از یک مجموعه مشکوک به درگیری با بندهای اعلام شده در ماده ۴ (۲) بند (ه) به مقصد مؤسسه تولید و فرآوری محصولات حاصل از تخم مرغ مورد تأیید مطابق با مفاد ماده ۶ (۱) مربوط به دستورالعمل ۸۹/۴۳۷/EEC که از این به بعد موسسه خوانده خواهد شد، باید با رعایت شرایط زیر صورت گیرد:

۱. جهت کسب اجازه حمل از یک مجموعه مشکوک، تخم پرندگان باید:

الف. با شرایط اعلام شده در بخش ۴ مربوط به ضمیمه الصاقی به دستورالعمل ۸۹/۴۳۷/EEC مطابقت نمایند.

ب. مستقیماً از مجموعه مشکوک به مؤسسه تعیین شده انتقال یابند؛ هر محموله باید قبل از ارسال توسط دامپزشک رسمی در مجموعه مشکوک مهر و موم شده و باید در تمام مدت و مسیر حمل تا محل مؤسسه تعیین شده مهر و موم باقی بماند.

۲. دامپزشک رسمی در مجموعه مشکوک باید مؤسسه تعیین شده برای حمل تخم مرغ را به اطلاع مرجع ذیصلاح برساند.

۳. مرجع ذیصلاح که مسئولیت نظارت بر مؤسسه تعیین شده را دارد باید تضمین نماید که:

الف. تخم پرنده‌های تعریف شده در بند ۱ (ب) باید از زمان رسیدن تا فرآوری جدا از سایر تخم مرغ‌های موجود نگهداری شوند.

ب. پوسته‌های این نوع تخم مرغ‌ها باید براساس ماده ۲ (۲) دستورالعمل ۹۰/۶۶۷/EEC (۱) به

عنوان مواد خطر دار قلمداد گردند و باید براساس شرایط درج شده در بخش II آن مصوبه با آن‌ها رفتار گردد.

ج. مواد بسته‌بندی و وسایط نقلیه مورد استفاده جهت انتقال تخم مرغ‌ها که در بند ۱ (ب) به آن اشاره شده است و تمام تجهیزاتی که تخم مرغ‌ها با آن‌ها تماس داشته‌اند به طریقی تمیز و ضد عفونی شوند که تمام ویروس‌های آنفلوآنزای پرندگان را از بین ببرد.

د. دامپزشک رسمی مجموعه مشکوک باید درخصوص فرآوری محموله‌های تخم مرغ‌های ارسالی در جریان قرار گیرد.

(1) OJ No L 363, 27. 12. 1990, p. 57

ضمیمه شماره ۲

روش تمیز سازی و ضد عفونی مجموعه‌های درگیر با عفونت

۱. تمیز کردن و ضد عفونی اولیه

الف. به محض خروج لاشه‌های طیور جهت معدوم سازی، تمام قسمت‌های مجموعه که در آن‌ها طیور نگهداری می‌شوند و تمام قسمت‌های سایر ساختمان‌ها، محوطه‌ها و غیره که طی کشتار یا کالبد شکافی آلوده شده‌اند باید توسط ماده ضد عفونی کننده مورد تأیید براساس مفاد ماده ۱۱ این دستورالعمل اسپری گردند.

ب. هرگونه بافت مربوط به بدن طیور یا تخم مرغ‌هایی که قابلیت آلوده سازی ساختمان‌ها، محوطه‌ها، ابزار و آلات و غیره را دارند باید با دقت جمع‌آوری و همراه با لاشه‌ها از بین برده شوند.

ج. ماده ضد عفونی کننده به کار گرفته شده حداقل برای ۲۴ ساعت بر روی سطوح باقی بماند.

۲. پاک سازی و ضد عفونی نهایی

الف. با استفاده از ترکیبات پاک کننده، کلیه کثافات و چربی‌های روی سطوح باید تمیز شوند و سپس با آب شسته شوند.

ب. به دنبال آبکشی به صورتی که در قسمت الف توضیح داده شده است، باید اسپری مواد ضد عفونی کننده به کار گرفته شود.

ج. بعد از هفت روز کل تأسیسات باید با مواد پاک کننده، پاک سازی و با آب سرد آبکشی شوند و بعد از

اسپری با ماده ضد عفونی کننده مجدداً آبکشی شوند.

د. بستر و کود باید با روشی تیمار گردد که قادر به کشتن ویروس‌ها باشد و باید بر اساس یکی از روش‌های زیر باشد:

(I) خاکستر کردن یا ضد عفونی با بخار در دمای 70°C ؛

(II) دفن کردن در عمق کافی برای جلوگیری از دسترسی حشرات و جانوران موزی و پرندگان وحشی؛

(III) کپه کردن و در صورت لزوم جهت تسهیل در عمل تخمیر، نمناک کردن و پوشاندن آن جهت

حفظ گرمای داخلی به طوری که دمای داخلی کپه به 20°C برسد و نگهداری آن در این وضعیت تا

۴۲ روز ادامه یابد. در ضمن اقدامات لازم در جهت جلوگیری از دسترسی حشرات و حیوانات

موزی و پرنده‌های وحشی صورت گیرد.*

ضمیمه شماره ۳

روش‌های تشخیصی جهت تأیید و تشخیص تفریقی آنفلوآنزای پرندگان (AI)

روش‌های ذیل برای جداسازی و شناسایی ویروس‌های آنفلوآنزا باید به عنوان دستورالعمل‌ها و حداقل روش‌های قابل به کارگیری در تشخیص آنفلوآنزا در نظر گرفته شوند. به منظور روش‌های تشخیصی مورد نیاز در تأیید و تشخیص تفریقی آنفلوآنزای پرندگان تعریف زیر باید به کار گرفته شود.

«آنفلوآنزای پرندگان» یعنی عفونت طیور حاصل از هر ویروس A آنفلوآنزا که ضریب بیماری‌زایی داخل

سیاه‌رگی آن در جوجه‌های شش هفته، بالاتر از $1/2$ باشد یا هر عفونت حاصل از تحت‌تیپ‌های H5 یا H7

ویروس‌های A آنفلوآنزا که تعیین‌توالی نوکلئوتیدی حضور اسیدهای آمینه بازی متعدد را در ناحیه

شکافتگی آنتی‌ژن هماگلوتنین آن‌ها نشان می‌دهد.**

*. یادداشت مترجمین: جهت اطلاعات دقیق‌تر به صفحه ۶۱ این کتاب در خصوص تیمار بستر آلوده و نحوه بررسی رفع آلودگی در توده بستر آلوده مراجعه شود.

**. تعریف جدید آنفلوآنزای پرندگان در یادداشت مترجمین در صفحه ۱ کتاب ملاحظه شود.

بخش ۱ - نمونه برداری و پردازش نمونه ها

نمونه ها

سواب های کلوآکی یا مدفوع و سواب های نایی اخذ شده از پرندگان بیمار، مدفوع یا محتویات روده، بافت مغز، نای، ریه ها، کبد، طحال و سایر ارگان های مشخصاً درگیر با بیماری، اخذ شده از پرندگان تازه تلف شده.

۱. آماده سازی نمونه ها

ارگان ها و بافت های عنوان شده در پاراگراف ۱ را می توان به روی هم ریخت، ولی آماده سازی جداگانه مواد مدفوعی ضروریست. سواب ها باید در داخل محیط حاوی مقادیر کافی آنتی بیوتیک قرار گیرند که به طور کامل آن ها را دربرگیرد. نمونه های مدفوعی و ارگان ها باید در داخل محیط آنتی بیوتیک با استفاده از یک مخلوط کن بسته یا با استفاده از هاون و دسته استریل، هموژنیزه شوند و در داخل این محیط، تعلیقی به نسبت 10^{-2} - 10^{-7} درصد ایجاد نمایند. تعلیق های ساخته شده باید تا حدود ۲ ساعت در دمای محیط و یا برای مدت زمانی بیشتر در 4°C رها شوند و سپس سانتریفوژ شوند (برای مثال ۸۰۰ تا ۱۰۰۰g برای ۱۰ دقیقه).

۲. محیط آنتی بیوتیک

آزمایشگاه های مختلف ترکیب های متفاوتی از محیط آنتی بیوتیک را با موفقیت به کار گرفته اند و آزمایشگاه های ملی قادر خواهند بود راهنمایی های لازم برای هر کشور را ارائه دهند. جهت نمونه های مدفوع غلظت های بالایی از آنتی بیوتیک ها مورد نیاز است و یک ترکیب معمول عبارت است از ۱۰۰۰۰ واحد در میلی لیتر پنی سیلین، ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر استرپتومایسین، ۰/۲۵ میلی گرم در میلی لیتر جنتامایسین و ۵۰۰۰ واحد در میلی لیتر مایکوستاتین در سالین بافر فسفات.

این سطوح آنتی بیوتیکی را می توان برای نمونه های بافتی و سواب های نایی تا ۵ برابر کاهش داد. جهت کنترل رشد ارگانیسم های کلامیدایی ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر اکسی تتراسایکلین می توان اضافه کرد. در هنگام ساخت محیط به دنبال افزودن آنتی بیوتیک چک کردن PH و تنظیم آن در حدود ۷ تا ۷/۴ ضروریست.

بخش ۲ - جداسازی ویروس

جداسازی ویروس در تخم مرغ جنین دار

مایع شفاف رویی باید به مقدار ۰/۲ - ۰/۱ میلی متر به داخل حفره آلانتوئیک حداقل چهار تخم مرغ SPF

برای هر نمونه تلقیح شده و برای ۸ تا ۱۰ روز خوابانیده شوند. به طور ایده آل، این تخم مرغ ها باید از گله SPF تهیه شده باشند ولی اگر این شرط در عمل قابل اجرا نیست می توان تخم مرغ های اخذ شده از گله های عاری از آنتی بادی علیه آنفلوآنزای پرندگان را مورد استفاده قرار داد. تخم های خوابانیده شده در ۳۷°C نگهداری می شوند و روزانه شمع بینی می گردند. جنین های مرده یا جنین هایی که در حال مردند و تمام تخم مرغ های باقی مانده، شش روز بعد از تلقیح تا ۴°C سرد می شوند و سپس مایع آلانتوئیک - آمنیوتیک آن ها جهت بررسی فعالیت هماگلوتیناسیون آزمایش می گردند. اگر هماگلوتیناسیون تشخیص داده نشد، روند فوق با استفاده از مایع آلانتوئیک - آمنیوتیک جهت تلقیح تکرار می گردد. در صورتی که هماگلوتیناسیون تشخیص داده شود حضور باکتری باید باکشت رد گردد. اگر باکتری ها حضور داشته باشند مایع های جمع شده را می توان از فیلتری با غشاء ۴۵۰ nm عبور داد و مقادیر آنتی بیوتیک بیشتری نظیر آنچه در بالا گفته شده به تخم مرغ ها تلقیح کرد.

بخش ۳ - تشخیص تفریقی

تشخیص اولیه

از آنجایی که به کارگیری تمهیدات کنترلی لازم جهت محدود ساختن گسترش ویروس باید با حداکثر سرعت ممکن انجام شود، هر کدام از آزمایشگاه های منطقه ای علاوه بر شناسایی نیوکاسل باید قادر به شناسایی هرگونه ویروس دارای خصوصیات هماگلوتیناسیون به عنوان تحت تیپ های H5 یا H7 ویروس های آنفلوآنزا باشند. مایع رویی دارای خاصیت هماگلوتیناسیون باید با روش آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون نیز طبق روش شرح داده شده در بخش ۵ و ۶ آزمایش شود. ممانعت مثبت به عبارت دیگر تیتراژ ۲^۴ یا بیشتر با آنتی سرم پلی کلونال خاص ضد تحت تیپ های H5 یا H7 آنفلوآنزای A و تیتراژ حداقل برابر با ۲^۹ باید به عنوان شناسایی اولیه جهت انجام تمهیدات کنترلی موقتی پیگیری شود.

تأیید تشخیص

از آنجایی که ۱۳ تحت تیپ هماگلوتیناسیون و ۹ تحت تیپ نور آمینیداز از ویروس های آنفلوآنزا وجود دارد* و این تحت تیپ ها مرتب در حال تغییر و افزایش هستند، تهیه و نگهداری سری کامل آنتی سرم لازم

*. یادداشت مترجمین: در حال حاضر تعداد تحت تیپ های ویروس آنفلوآنزای پرندگان به ۱۶ تحت تیپ هماگلوتیناسیون و ۱۰ تحت تیپ نور آمینیداز افزایش یافته است.

جهت تعیین خصوصیات کامل آنتی ژنی جدایه‌ها برای آزمایشگاه‌های ملی عملی و مقرون به صرفه نخواهد بود ولی به هر حال، هر کدام از این آزمایشگاه‌های ملی باید قادر به انجام موارد زیر باشند:

I. با استفاده از آزمایش ایمنودیفوزیون دوبل^۱ قادر به تأیید این مطلب باشند که جدایه موجود، یک ویروس آنفلوآنزای تیپ A می‌باشد. ممکن است در صورت تمایل روش‌های ایمنوفلورسانس یا الیزا جهت شناسایی آنتی ژن‌های اختصاصی گروه توسط آزمایشگاه ملی به کار گرفته شود.

II. قادر به تشخیص و تعیین تحت تیپ H5 یا H7 در جدایه‌های ویروس آنفلوآنزا باشند.

III. قادر به انجام آزمایش تعیین ضریب بیماری‌زایی داخل سیاه‌رگی در جوجه‌های شش هفته مطابق با روش شرح داده شده در بخش ۷ باشند. ضرایب بیماری‌زایی داخل سیاه‌رگی بالاتر از ۱/۲ حضور ویروس‌هایی را نشان می‌دهد که وجودشان انجام تمهیدات کنترلی کامل را ضروری می‌سازد. انجام آزمایش تعیین قدرت ایجاد پلاک در کشت سلولی براساس روش شرح داده شده در بخش ۸ می‌تواند یک روش قابل استفاده باشد.

آزمایشگاه‌های رفرانس باید بلافاصله تمام جدایه‌های ویروس آنفلوآنزای پرندگان و تحت تیپ‌های H5 و H7 را به آزمایشگاه مرجع جامعه اروپا جهت تعیین خصوصیات کامل تحویل دهند.

۳. سایر روش‌های تیپ‌بندی و تعیین خصوصیات جدایه‌ها

آزمایشگاه مرجع جامعه اروپا باید تمام نمونه‌های ویروسی با قابلیت ایجاد هم‌اگلوتیناسیون را جهت مطالعات بیشتر خصوصیات آنتی ژنی و ژنتیکی از آزمایشگاه‌های ملی دریافت نماید تا قادر به درک بهتر از اپیزوتیپولوژی بیماری در جامعه اروپا برطبق عملکرد و معیار آزمایشگاه مرجع باشد. علاوه بر این وظایف، آزمایشگاه مرجع جامعه اروپا باید قادر به تعیین تیپ آنتی ژنتیکی کامل تمام ویروس‌های آنفلوآنزای دریافت شده باشد. در مورد ویروس‌های H5 و H7 که ضریب بیماری‌زایی داخل سیاه‌رگی بالاتر از ۱/۲ ندارند، باید تعیین توالی نوکلئوتیدی ژن هم‌اگلوتینین جهت تعیین وجود اسیدهای آمینه بازی متعدد در ناحیه شکاف‌تگی پروتئین هم‌اگلوتینین انجام شود.

بخش ۴ - آزمایش‌های سرولوژی در ارتباط با آنتی‌بادی‌های ضد ویروس‌های آنفلوانزا

۱. در طی اجرای برنامه‌های ریشه‌کنی در شرایطی که تحت تیپ H ویروس عامل قبلاً شناخته شده است، یا در صورت استفاده از آنتی‌ژن ویروس همولوگ، حضور عفونت را می‌توان با استفاده از بررسی سرولوژی آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون براساس شرح بخش ۵ و ۶ انجام داد.

در شرایطی که تحت تیپ H ویروس عامل، شناخته شده نیست شواهد وجود عفونت با ویروس‌های A آنفلوانزا را می‌توان با تشخیص آنتی‌بادی‌های ضد آنتی‌ژن‌های اختصاصی گروه به دست آورد. بدین منظور تست ایمونودیفرانسیون دوپل براساس شرح در بخش ۹ یا یک آزمایش الیزا قابل استفاده است. مشکل موجود با الیزا اختصاصی بودن آن برای میزبان است زیرا این تست وابسته به شناسایی ایمونوگلوبولین‌های میزبان می‌باشد. پرندگان آبی در آزمایش‌های ایمونودیفرانسیون دوپل به ندرت نتایج مثبت نشان می‌دهند مگر در شرایطی که تحت تیپ ویروس شناخته شده باشد و احتمالاً در این گونه پرندگان انجام آزمایش تنها جهت تعیین حضور آنتی‌بادی‌های H5 و H7 عملی خواهد بود.

۲. الف. نمونه‌ها

در گله‌های کوچکتر از ۲۰ قطعه نمونه‌های خونی باید از تمام پرندگان و در گله‌های بزرگ‌تر باید از ۲۰ قطعه پرنده اخذ گردد (بدون در نظر گرفتن اندازه گله اگر ۲۵ یا درصد بیشتری از گله مثبت باشد، در این شرایط با احتمال ۹۹٪ امکان شناسایی حداقل یک سرم مثبت وجود خواهد داشت). نمونه‌های خونی باید منعقد شده و سرم‌شان جدا گردد.

ب. آزمایش وجود آنتی‌بادی‌ها

هر کدام از سرم‌ها به‌طور تکی باید از جهت توانایی آن‌ها در ممانعت از هماگلوتیناسیون آنتی‌ژن ویروس آنفلوانزا در آزمایش‌های ممانعت از هماگلوتیناسیون براساس شرح بخش ۶ آزمایش گردد.

بحث‌هایی در مورد ضرورت استفاده از ۴ یا ۸ واحد هماگلوتینین در آزمایش‌های HI وجود دارد. به نظر می‌آید هر دو روش کارا و مؤثر می‌باشد و روش به کار گرفته شده به انتخاب آزمایشگاه‌های ملی است.

به هر حال، آنتی‌ژن به کار گرفته شده سطح مورد قبول را به عنوان پاسخ مثبت، تحت تأثیر قرار خواهد داد. در صورت استفاده ۴HAU تیتراژهای برابر با ۲^۴ یا بالاتر از آن به عنوان سرم‌های مثبت در نظر گرفته می‌شوند و در صورت استفاده از ۸HAU تیتراژهای برابر با ۲^۳ یا بالاتر از آن به عنوان سرم‌های مثبت تلقی می‌شوند.

بخش ۵- آزمایش هماگلوตินاسیون (HA)

معرف‌ها

۱. سالین ایزوتونیک بافر با فسفات (۰/۰۵M) با pH ۷ تا ۷/۴.
۲. سلول‌های قرمز خونی (RBC) که حداقل از سه پرنده عاری از عامل بیماری‌زا (SPF) اخذ و بر روی هم ریخته شده (در صورت در دسترس نبودن جوجه SPF می‌توان خون مورد استفاده را از پرنده‌هایی اخذ کرد که در بررسی مداوم و منظم، عاری از آنتی‌بادی ضد آنفلوآنزای پرندگان می‌باشند) و به نسبت هم حجم با محلول آلسور^۱ مخلوط شده است. گلبول‌های قرمز باید قبل از مصرف سه بار با محلول PBS شستشو گردند. در آزمایش دیگری مخلوط ۱٪ RBC (سلول کامل v/v) در PBS توصیه می‌شود.
۳. آزمایشگاه مرجع جامعه، ویروس‌های H5 یا H7 با حدت کم را به عنوان آنتی‌ژن‌های استاندارد مورد مصرف تأمین یا توصیه خواهد کرد.

روش آزمایش:

۱. مقدار ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر محلول PBS در هر یک از گوده‌های پلیت پلاستیکی میکروتیتر تقسیم نمایید. (گوده‌های پلیت مورد استفاده باید دارای ته V شکل باشد).
۲. میزان ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر تعلیق ویروس (به عبارت دیگر مایع آلائتوئیک) به گوده اول اضافه نمایید.
۳. با استفاده از یک دایلوتر (سمپلر) میکرولیتر رقت‌های ۲ تا $\left(\frac{1}{4} \text{ تا } \frac{1}{4096}\right)$ از ویروس در طول پلیت ایجاد کنید.
۴. مجدداً میزان ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر محلول PBS به هر گوده اضافه نمایید.
۵. مقدار ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر از تعلیق ۱٪ سلول‌های قرمز خونی به هر گوده اضافه نمایید.
۶. با ضربه‌های آرام محتویات گوده‌ها را خوب مخلوط نمایید و پلیت را در دمای ۴°C قرار دهید.
۷. ۳۰ تا ۴۰ دقیقه بعد از افزودن گلبول قرمز کنترل، پلیت‌ها خوانده می‌شوند. خواندن پلیت‌ها با خم کردن آن‌ها و مشاهده حضور یا عدم حضور جریان اشک‌مانند RBC‌ها در کف گوده‌ها انجام می‌شود. RBC‌های گوده‌های بدون HA باید با سرعت و به نسبتی یکسان با سلول‌های قرمز گوده کنترل فاقد ویروس جریان پیدا کنند.

۱۲. قوانین مصوبه اتحادیه اروپا

۸. بالاترین رقتی که در آن آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز رخ داده است، به عنوان تیترا HA در نظر گرفته می‌شود. این رقت را می‌توان به عنوان رقت حاوی یک واحد HA (HAU) در نظر گرفت. روش دقیق‌تر برای تعیین تیترا HA، انجام آزمایش‌های HA بر روی رقت‌های اولیه نزدیک به هم است که به عبارت دیگر رقت‌های $\frac{1}{3}$ ، $\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{5}$ و $\frac{1}{6}$ و غیره می‌باشد. این روش برای آماده‌سازی دقیق آنتی‌ژن برای آزمایش‌های ممانعت از هماگلوتیناسیون توصیه می‌گردد (بخش ۶).

بخش ۶ - آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

معرف‌ها:

۱. محلول بافر فسفات (PBS)؛
۲. مایع آلانتوئیک حاوی ویروس رقیق شده با PBS حاوی ۴ تا ۸ واحد HA (HAU) در هر ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر؛
۳. تعلیق ۱٪ RBC‌های مرغ؛
۴. شاهد منفی سرم مرغ؛
۵. شاهد مثبت سرم.

روش آزمایش

۱. مقدار ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر محلول PBS به تمام گوده‌های پلیت پلاستیکی میکروتیترا (گوده‌های پلیت مورد استفاده باید دارای ته V شکل باشد) تقسیم نمایید.
۲. مقدار ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر سرم به اولین گوده پلیت اضافه نمایید.
۳. با استفاده از دایلوتر (سمپلر) میکروتیترا رقت‌های دو تایی از سرم در طول پلیت ایجاد نمایید.
۴. مقدار ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر مایع آلانتوئیک رقیق شده حاوی ۴ یا ۸ واحد HA (HAU) به هر گوده اضافه نمایید.
۵. با ضربه‌های ملایم محتویات گوده‌ها را خوب مخلوط نمایید و در دمای ۴°C حداقل برای ۶۰ دقیقه و یا در دمای اتاق حداقل برای ۳۰ دقیقه قرار دهید.
۶. مقدار ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر تعلیق RBC یک درصد به تمام گوده‌ها اضافه نمایید.
۷. مجدداً با ضربه‌های آهسته محتویات گوده‌ها را مخلوط نمایید و در دمای ۴°C قرار دهید.

۸. پلیت‌ها ۳۰ تا ۴۰ دقیقه بعد از ریختن کنترل RBC ها خوانده می‌شوند. خواندن پلیت‌ها با کج کردن آن‌ها و مشاهده حضور یا عدم حضور جریان اشک‌مانند با سرعت و نسبت یکسان باگوده‌های کنترل حاوی RBC تنها (۰/۰۲۵ میلی‌لیتر گلبول قرمز و ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر محلول PBS) انجام می‌شود.
۹. بالاترین رقت از آنتی‌سرم که باعث ممانعت کامل چهار یا هشت واحد ویروس گردد به عنوان تیتراژ HI در نظر گرفته می‌شود. (جهت تأیید حضور HAU مورد نیاز باید در هر آزمایش تیتراسیون HA وجود داشته باشد).
۱۰. ارزش نتایج وابسته به کسب تیتراژهای رقیق‌تر از ۲^۳ برای ۴ واحد HA (HAU) و تیتراژهای رقیق‌تر از ۲^۲ برای ۸ واحد HA (HAU) می‌باشد.

بخش ۷- ضریب بیماری‌زایی داخل سیاه‌رگی (IVPI)

۱. مایع آلتونوئیک اخذ شده از کشت تخم‌مرغ با کمترین پاساژ و ترجیحاً از جدایه ابتدایی بدون هیچگونه انتخابی در سالین ایزوتونیک استریل به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق می‌گردد.
۲. ۰/۱ میلی‌لیتر از مایع حاوی ویروس به‌طور داخل رگی به هر یک از ۱۰ جوجه SPF با سن شش هفته تزریق می‌گردد.
۳. جوجه‌ها با توالی ۲۴ ساعت یکبار به مدت ۱۰ روز مورد مشاهده و بررسی قرار می‌گیرند.
۴. در هر یک از این مشاهدات وضعیت هر جوجه به شکل نرمال (۰)، بیمار (۱)، شدیداً بیمار (۲) یا تلف شده (۳) گزارش می‌گردند.
۵. نتایج به شکل جدول نمونه زیر ثبت می‌گردند و ضرایب مربوطه محاسبه می‌شوند.

علامت بالینی	روزهای بعد از تلقیح	مجموع امتیازها
نرمال (۰)	۱۰ ۲ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰	۱۲×۰=۰
بیمار (۱)	۰ ۴ ۲ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰	۶×۱=۶
شدیداً بیمار (۲)*	۰ ۲ ۲ ۲ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰ ۰	۶×۲=۱۲
تلف شده (۳)	۰ ۲ ۶ ۸ ۱۰ ۱۰ ۱۰ ۱۰ ۱۰ ۱۰	۷۶×۳=۲۲۸
		مجموع = ۲۴۶

ضریب = میانگین امتیازات برای هر پرندۀ برحسب تعداد مشاهدات = $\frac{246}{100} = \frac{2.46}{1}$

* این مورد باید براساس قضاوت دقیق در علائم کلینیکی انجام شود و به طور معمول پرنده‌هایی که بیش از یکی از علائم زیر را نشان دهند در این قسمت قرار می‌گیرند: درگیری تنفسی، افسردگی، اسهال، سیانوز در ریش‌ها و پوست نواحی فاقد پر، تورم صورت و یا سر و علائم عصبی.

بخش ۸ - ارزیابی توانایی ایجاد پلاک

۱. به طور معمول بهترین روش، استفاده از رقت‌های متفاوت و ویروس می‌باشد تا اطمینان حاصل شود که تعداد کافی پلاک بر روی پلیت حضور دارد. رقت‌های ۱۰ تا 10^{-7} در PBS کافی خواهد بود.
۲. محیط کشت سلول تک لایه مرکب از سلول‌های جنین جوجه یا یک رده سلولی مناسب (برای مثال Madin-Darby canine kidney) در ظروف پتری با قطر ۵ سانتی‌متر آماده می‌شوند.
۳. 0.2 میلی‌لیتر از هر رقت و ویروس به یک جفت ظرف پتری اضافه می‌گردد و حدود 30 دقیقه جهت جذب و ویروس زمان داده می‌شود.
۴. سلول‌های عفونی شده بعد از سه بار شستشو با PBS با استفاده از محیط مناسب شامل 1w/v آگار بدون تریپسین و یا با تریپسین به اندازه 1mg/ml پوشانده می‌شود و باید از اضافه شدن سرم به محیط روثی ممانعت شود.
۵. بعد از 72 ساعت انکوباسیون در 37°C پلاک‌ها باید دارای اندازه مناسبی شده باشند. بهترین روش برای مشاهده آن‌ها برداشتن پوشش آگار از روی لایه سلولی و رنگ‌آمیزی آن با کریستال ویوله (0.05w/v) در اتانل 25v/v است.
۶. در صورت استفاده از تریپسین، تمام ویروس‌ها باید در لایه پوششی پلاک‌های مشخصی ایجاد نمایند. در صورت عدم استفاده از تریپسین، تنها ویروس‌هایی که برای طیور حدت دارند قادر به ایجاد پلاک در لایه پوششی خواهند بود.

بخش ۹ - ایمونودیفوزیون دوبل

روش ارجح تشخیص حضور و ویروس آنفلوآنزای A نشان دادن وجود آنتی‌ژن‌های ماتریکس یا نوکلئوکسپید است که در میان تمام ویروس‌های آنفلوآنزای A مشترک می‌باشد. این عمل در آزمایش‌های ایمونودیفوزیون دوبل بر روی نمونه‌های ویروسی آماده و تغلیظ شده یا عصاره پرده‌های آلانتوئیک عفونی انجام می‌شود.

نمونه‌های ویروسی تغلیظ شده که به گونه‌ای مناسب تهیه شده‌اند و عبارتند از مایع آلتوتوئیک عفونی که با سرعت بالا سانتریفوژ شده و جهت آزادسازی آنتی‌ژن‌های نوکلئوکسپید و ماتریکس تحت تأثیر دترجنت لانورویل ساکروزینات سدیم قرار گرفته است. رسوب‌سازی توسط اسید با افزودن اسید کلریدریک یک نرمال به مایع آلتوتوئیک عفونی و ایجاد pH ۳/۵ تا ۴ و سپس قرار دادن در دمای صفر درجه برای حداقل یک ساعت و سانتریفوژ آن با سرعت پایین حدود ۱۰۰۰g برای ده دقیقه انجام می‌گیرد.

مایع رویی بیرون ریخته می‌شود و رسوب حاوی ویروس مجدداً در حداقل حجم بافر سارکوسیل گلاسیین (۱٪ لانورویل ساکروزینات سدیم بافر با pH تثبیت شده برابر با ۹ همراه با ۰/۵M گلاسیین) مجدداً حل می‌گردد. این نمونه آماده شده حاوی آنتی‌ژن‌های نوکلئوکسپید و ماتریکس هستند. Beard در سال ۱۹۷۵ روش آماده‌سازی آنتی‌ژن غنی از پروتئین نوکلئوکسپید اخذ شده از پرده‌های کوریوآلتوتوئیک تخم مرغ‌های عفونی را تشریح کرد.

این روش شامل جدا کردن پرده‌های آلتوتوئیک از تخم مرغ‌های عفونی با هماگلوتینین مثبت، ساییدن و هموژنیزه کردن پرده‌ها، سه بار انجماد و رفع انجماد و به دنبال آن سانتریفوژ در ۱۰۰۰g برای ۱۰ دقیقه می‌باشد.

پلیت مورد استفاده دور انداخته می‌شود و به مایع فوقانی حاصله فرمالین ۰/۱٪ اضافه می‌شود و به عنوان آنتی‌ژن مورد استفاده قرار می‌گیرد. هر دوی این آنتی‌ژن‌ها در تست‌های ایمونودیفریون دوپل و با استفاده از آگاروز ۱ درصد یا آگار، ژل‌های حاوی ۸٪ کلرید سدیم که با استفاده از ۰/۱M بافر فسفات PH آن به ۷/۲ رسیده است، قابل استفاده می‌باشند. تشکیل یک خط رسوبی بین آنتی‌ژن تحت آزمایش و آنتی‌سرم و امتداد آن با خط حاصل از آنتی‌ژن کنترل مثبت با این آنتی‌سرم دلیل بر وجود ویروس آنفلوانزای A می‌باشد.

لیست آزمایشگاه‌های ملی ویژه آنفلوآنزای پرندگان:

Belgium

Institut National de Recherches Vétérinaires,
Groeselenberg 99, B-1180 Brussels

Denmark

National Veterinary Laboratory, Poultry Disease Division,
Hangoevej 2, DK-8200 Aarhus N

Germany

Institut fuer Kleintierzucht der Bundesforschungsanstalt fuer Landwirtschaft,
Braunschweig-Voelkenrode, Postfach 280, D-3100 Celle

France

Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires - Laboratoire Central de
Recherches Avicoles et Porcines, B.P. 53, F-22440 Ploufragan

Greece

Institute of Infectious and Parasitological Diseases,
66, 26th October Street, 546 27 Thessaloniki

Ireland

Veterinary Research Laboratory,
Abbotstown, Castleknock, Dublin 15

Italy

Istituto di Patologia Aviaria, Facolta di Medicina Veterinaria, Università di Napoli
Via Aniezzo Falcone 334, 80127 Napoli

Luxembourg

Institut National de Recherches Vétérinaires,
Groeselenberg 99, B 1180 Brussels

Netherlands

Centraal Diergeneeskundig Instituut, Vestiging Virologie,
Houtribweg 39, NL-8221 RA Lelystad

Portugal

Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (LNIV)
Estrada de Benfica 701, P-1500 Lisbon

Spain

Centro Nacional de Referencia para la Peste Aviar es el Laboratorio Nacional de
Sanidad y Producción Animal de Barcelona,
Zona Franca Circunvalación-Tramo 6, Esquina Calle 3, Barcelona

United Kingdom

Central Veterinary Laboratory,
New Haw, UK-Weybridge, Surrey KT15 3NB

* در فصل ۱۳ لیست کامل آزمایشگاه‌های ملی مربوط به سال ۲۰۰۰ آورده شده است.

آزمایشگاه مرجع آنفلوآنزای پرندگان جامعه اروپا

نام آزمایشگاه

Central Veterinary Laboratory
New Haw,
UK-Weybridge,
Surrey KT 15 3NB,
United Kingdom.

- عملکردها و وظایف آزمایشگاه مرجع برای آنفلوآنزای پرندگان در جامعه اروپا عبارتند از:
۱. هماهنگ نمودن روش مورد استفاده توسط کشورهای عضو جهت تشخیص آنفلوآنزای پرندگان با مشورت کمیسیون جامعه اروپا، به ویژه با استفاده از:
 - الف. تعیین تیپ کردن، طبقه‌بندی کردن و فراهم کردن سویه‌های ویروس‌های آنفلوآنزای پرندگان جهت تست‌های سرولوژی و تهیه آنتی‌سرم‌های آن‌ها؛
 - ب. فراهم کردن سرم‌های استاندارد و سایر معرف‌ها برای آزمایشگاه‌های مرجع ملی جهت استاندارد کردن تست‌ها و معرف‌های مورد استفاده در کشورهای عضو؛
 - ج. جمع‌آوری و نگهداری مجموعه‌ای از جدایه‌ها و سویه‌های ویروس آنفلوآنزای پرندگان؛
 - د. سازماندهی آزمایش‌های مقایسه‌ای روش‌های تشخیصی به صورت دوره‌ای در سطح جامعه اروپا؛
 - ه. جمع‌آوری و سازماندهی اطلاعات مربوط به روش‌های تشخیص مورد استفاده و نتایج حاصل از تست‌های انجام شده در جامعه اروپا؛
 - و. تعیین خصوصیات جدایه‌های ویروس‌های آنفلوآنزا با استفاده از آخرین روش‌های در دسترس جهت رسیدن به بیشترین میزان درک از اپیزوتیولوژی آنفلوآنزای پرندگان و کسب بینش در مورد اپیزوتیولوژی ویروس و پیدایش سویه‌های با حدت بالا و یا با قابلیت تبدیل به سویه‌های با حدت؛
 - ز. حفظ حرکت مداوم رو به جلو در نظارت بیماری آنفلوآنزای طیور، اپیزوتیولوژی و پیشگیری

آن در سرتاسر دنیا؛

ح. حفظ دانش فنی در مورد ویروس آنفلوآنزای پرندگان و سایر ویروس‌های مربوطه جهت ایجاد امکان تشخیص تفریقی سریع؛
ط. کسب دانش کاملی از آماده‌سازی و به‌کارگیری تولیدات حاصل از ایمنی‌شناسی دامپزشکی قابل استفاده در ریشه‌کشی و کنترل آنفلوآنزای پرندگان؛

۲. همکاری فعال در تشخیص همه‌گیری‌های آنفلوآنزای پرندگان در کشورهای عضو از طریق دریافت جدایه‌های ویروس و تأیید تشخیص، تعیین خصوصیات آن‌ها و مطالعات اپیدمیولوژی، به‌ویژه، این آزمایشگاه‌ها باید قادر به تعیین توالی نوکلئوتیدها باشند تا قادر به تعیین توالی اسیدهای آمینه واقع در محل شکافتگی مولکول هماگلوتنین ویروس‌های آنفلوآنزای پرندگان تحت تیپ H5 یا H7 باشند.

۳. آموزش یا بازآموزی متخصصین تشخیص‌های آزمایشگاهی را با دورنمای هماهنگ نمودن تکنیک‌های آزمایشگاهی مورد استفاده در سرتاسر جامعه اروپا انجام دهند.

معیارهای مورد استفاده در طرح‌های برخورد با حوادث غیرمترقبه:

در برنامه‌های برخورد با رویدادهای پیش‌بینی نشده باید معیارهای زیر در نظر گرفته شود:

۱. تشکیل یک مرکز مدیریت بحران در سطح ملی که باید تمامی تمهیدات کنترلی در کشورهای عضو مورد نظر را هماهنگ نماید.

۲. لیستی از مراکز منطقه‌ای کنترل بیماری دارای تسهیلات مناسب جهت هماهنگ کردن تمهیدات کنترلی در سطح منطقه‌ای باید ارائه گردد.

۳. اطلاعات شامل جزئیات کامل از افراد درگیر در اجرای تمهیدات کنترلی، مهارت‌های آن‌ها و مسئولیت‌های هر فرد باید تهیه و ارائه گردد.

۴. هر کدام از مراکز منطقه‌ای کنترل بیماری منطقه‌ای باید قادر به تماس سریع با افراد و تشکیلات مستقیم یا غیرمستقیم درگیر با یک همه‌گیری باشند.

۵. تجهیزات مورد نیاز جهت اجرای مناسب تمهیدات کنترل بیماری باید در دسترس باشند.

۶. دستورالعمل‌هایی حاوی جزئیات کامل در مورد عملیات و تمهیدات قابل اجرا در شرایط مشکوک یا تأیید شده عفونت یا آلودگی شامل روش‌های پیشنهادی از بین بردن لاشه‌ها باید ارائه گردند.

۷. برنامه‌های آموزشی جهت حفظ و ارتقاء مهارت‌های مزرعه‌ای و روندهای اجرایی و اداری اجرا شود.

۸. آزمایشگاه‌های تشخیصی باید تسهیلات کافی جهت کالبدگشایی، ظرفیت مناسب جهت انجام تست‌های سرولوژی و هیستولوژی و غیره داشته باشند و باید مهارت‌های لازم برای تشخیص سریع را حفظ نمایند. هماهنگی‌های لازم جهت انتقال سریع نمونه‌ها باید انجام شده باشد.

۹. جزئیات کاملی از مقدار تخمینی واکسن آنفلوآنزای مورد نیاز در صورت لزوم به بهره‌گیری از واکسیناسیون اورژانس تهیه گردد.

۱۰. پیش‌بینی‌های لازم جهت کسب اطمینان از قدرت قانونی اجرایی ضروری برای اجرای طرح‌های برخورد با حوادث پیش‌بینی نشده، انجام پذیرد.

قوانین اتحادیه اروپا در مورد آنفلوآنزای پرندگان

رهنمودها

- رهنمود کونسیل به شماره ۹۰/۵۳۹/EEC راجع به شرایط بهداشت حیوانات مورد استفاده در مدیریت تجارت داخلی در درون جامعه اروپا و واردات طیور و تخم مرغ‌های نطفه‌دار از کشورهای ثالث
- رهنمود کونسیل به شماره ۹۱/۴۹۴/EEC راجع به شرایط بهداشت حیوانات مورد استفاده در مدیریت تجارت داخلی در درون جامعه اروپا و واردات گوشت طیور تازه از کشورهای ثالث
- رهنمود کونسیل به شماره ۹۲/۶۵/EEC شامل اعلام الزامات بهداشت حیوانات مورد استفاده در مدیریت تجارت داخلی جامعه و واردات حیوانات، اسپرم، تخمک و جنین‌هایی که موضوع شامل در لیست الزامات بهداشت حیوانات مندرج در مقررات ویژه جامعه اشاره شده در پیوست الف (۱) و در رهنمود ۹۰/۴۲۵/EEC
- رهنمود کونسیل به شماره ۸۲/۸۹۴/EEC راجع به گزارش بیماری‌های حیوانات در داخل جامعه اروپا
- رهنمود کونسیل به شماره ۹۲/۴۰/EEC پیرامون تمهیدات جامعه اروپا برای کنترل آنفلوآنزای پرندگان
- رهنمود کونسیل به شماره ۹۳/۱۱۹/EEC راجع به محافظت از حیوانات طی زمان کشتار یا کشتن آن‌ها

مصوبه‌ها - کشورهای عضو

- مصوبه کمیسیون ۲۰۰۰/۶۸۰/EC در جهت تصویب برنامه‌های برخورد با حوادث پیش‌بینی نشده ارائه شده جهت کنترل آنفلوآنزای پرندگان و بیماری نیوکاسل
- مصوبه کمیسیون ۲۰۰۰/۱۴۹/EC در مورد تمهیدات محافظتی ویژه در ارتباط با آنفلوآنزای پرندگان در ایتالیا
- مصوبه کمیسیون ۲۰۰۰/۷۲۱/EC پیرامون مطرح کردن واکسیناسیون به عنوان مکمل تمهیدات به کار گرفته شده جهت کنترل آنفلوآنزای پرندگان در ایتالیا و پیرامون تمهیدات کنترلی ویژه نقل و انتقالات
- مصوبه کمیسیون ۹۰/۴۲۴/EC پیرامون هزینه‌ها در زمینه دامپزشکی

۱۲. قوانین مصوبه اتحادیه اروپا

- مصوبه کمیسیون EC/۵۱۰/۲۰۰۰ پیرامون کمک‌های ویژه مالی از طرف جامعه اروپا برای ریشه‌کنی آنفلوآنزای پرندگان در ایتالیا طی سال ۱۹۹۹
- مصوبه کمیسیون EC/۷۱۹/۹۶ پیرامون کمک‌های مالی از طرف جامعه اروپا برای اداره کردن آزمایشگاه مرجع جامعه اروپا برای آنفلوآنزای پرندگان
(Central Veterinary Laboratory, Addlestone, United Kingdom)
- مصوبه کمیسیون EEC/۳۴۲/۹۳ شامل اعلام معیارهای طبقه‌بندی کشورهای ثالث با در نظر گرفتن آنفلوآنزای پرندگان و بیماری نیوکاسل در ارتباط با واردات طیور زنده و تخم مرغ نطفه‌دار از آن‌ها
- مصوبه کمیسیون EC/۴۳۸/۹۴ شامل اعلام معیارهای طبقه‌بندی کشورهای ثالث و بخش‌های مربوطه با در نظر گرفتن آنفلوآنزای پرندگان و بیماری نیوکاسل در ارتباط با واردات گوشت تازه طیور و اصلاحیه مصوبه EEC/۳۴۲/۹۳
- مصوبه کمیسیون EC/۹۸۴/۹۴ شامل اعلام شرایط بهداشت حیوانات برای واردات گوشت تازه طیور از کشورهای ثالث
- مصوبه کمیسیون EC/۴۸۲/۹۶ شامل اعلام شرایط بهداشت حیوانات و گواهی‌های دامپزشکی برای واردات طیور و تخم مرغ‌های نطفه‌دار به غیر از شترمرغ‌ها و تخم آن‌ها از کشورهای ثالث شامل: تمهیدات مربوط به بهداشت حیوانات قابل به کارگیری به دنبال انجام چنین وارداتی
- مصوبه کمیسیون EC/۲۹۲/۹۲ پیرامون کمک‌های ویژه مالی از طرف جامعه اروپا برای ریشه‌کنی طاعون پرندگان در United kingdom
- مصوبه کمیسیون EC/۶۰۹/۲۰۰۰ شامل اعلام شرایط بهداشت حیوانات و بهداشت عمومی و صدور گواهی دامپزشکی برای واردات گوشت شترمرغ و اصلاحیه مصوبه EC/۸۵/۹۴ شامل لیست مدون ممالک ثالثی که کشورهای عضو اتحادیه اروپا واردات گوشت تازه طیور از آن‌ها را مجاز اعلام کرده‌اند
- مصوبه کمیسیون EC/۶۶۶/۲۰۰۰ شامل اعلام الزامات بهداشت حیوانات و صدور گواهی دامپزشکی برای واردات پرندگان غیر طیور صنعتی و شرایط قرنطینه

لیست آزمایشگاه‌های ملی جهت بیماری آنفلوآنزای پرندگان

Austria

Eveline Wodak

Federal Institute for Veterinary-medical
examinations

Robert Koch Gasse 17, A-2340 Mödling, Austria

Phone:++43 2236 46640-907

Fax:++43 223 24716

Email: wodak@batsb.at

Belgium

Guy Meulemans, Thierry van den Berg

Veterinary and Agrochemical Research Centre

99, Groeselenberg, 1180 Brussels, Belgium

Phone:++32 2 379 04 76

Fax:++32 2 379 04 01 or 32 2 379 06 70

Email: gumeu@var.fgov.be; thvan@var.fgov.be

Denmark

Kurt Handberg

Avian Virology, Danish Veterinary Laboratory,
Department of Poultry, Fish and Fur-Bearing
Animals,

DK-8200 Aarhus N, Denmark

Phone:++45 8937 2459

Fax:++45 8937 2470

Email: kha@svs.dk

Finland

Anita Huovilainen

National Veterinary and Food Research Institute,
Department of Virology

P.O. Box 45, (Hameentie 57), 00581 Helsinki,
Finland

Phone:++358 9 3931726

Fax:++358 9 3931932

Email: anita.huovilainen@eela.fi

France

Veronique Jestin

AFSSA-Ploufragan, VIPAC Unit

BP 53, 22440 Ploufragan, France

Phone:++33 2 96 01 62 22

Fax:++33 2 96 01 62 63

Email: v.jestin@ploufragan.afssa.fr

Germany

Ortrud Werner

Federal Research Centre for Virus Diseases of
Animals

Boddenblick 5a

D-17498 Insel Riems, Federal Republic of
Germany

Phone:++49 38351 70

Fax:++49 38351 7219

Email: ortrud.werner@rie.bfav.de

Greece

John Papanikolaou
Laboratory of Poultry Diseases
Ministry of Agriculture
Veterinary Institute of Infectious and Parasitic
Diseases
80, 26th October Str.
54627 Thessaloniki, Greece
Phone:++30 552027-29
Fax:++30 552023
Email:kkith@oternet.gr

Israel

Michael Lipkind, Esher Shihmanter
Unit of Molecular Virology
Division of Avian Diseases
Kimron Veterinary Institute
P.O. Box 12, 50250 Bet Dagan, Israel
Phone:++972 3 9681616
Fax:++972 3 9681739
Email: mlipk-vs@netvision.net.il
Email: eshic-vs@netvision.net.il

Italy

Ilaria Capua
Laboratorio Virologia
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle
Venezie
Via Romea, 14/A
35020 Legnaro, Padova, Italy
Phone:++39 049 8084369
Fax:++39 049 8084360
Email: icapua@izsvenezie.it

New Zealand

Wlodek L. Stanislawek
National Centre for Disease Investigation
P.O. Box 40 742 Upper Hutt, New Zealand
Phone:++64 4 526 5600
Fax:++64 4 526 5601
Email: stanislawekw@maf.govt.nz

Poland

Zenon Minta
Department of Poultry Diseases
National Veterinary Research Institute
Al. Partyzantow 57
24-100 Pulawy, Poland
Phone:++48 81 8863051
Fax:++48 81 8862595
Email: zminta@piwet.pulawy.pl

Portugal

Miguel Fereireiro
Laboratorio Nacional de Investigacao Veterinaria
Estrada de Benfica 701
Estrada de Benfica 701
1549-011 Lisboa, Portugal
Phone:++351 21 7115288/9/90
Fax:++351 21 711 5387
Email: miguel.fereireiro@Iniv.min-agricultura.pt

Slovenia

Olga Zorman Rojs
Institute for Health Care of Poultry
Veterinary Faculty
Cesta v Mestni log 47
1000 Ljubljana, Slovenia
Phone:++386 1 4779 242
Email:rojsol@vf.uni-lj.si

Sweden

György Czifra
Department of Poultry
National Veterinary Institute
SE-751 89 Uppsala, Sweden
Phone:++46 18 674 204
Fax:++46 18 674 094
Email: Gyorgy.Czifra@sva.se

Switzerland

Richard Hoop
Institute of Veterinary Bacteriology
Dept. of Poultry Diseases
Winterthurerstr. 270
8057 Zürich, Switzerland
Phone:++41 1 635 863;
Fax:++41 1 635 89 12;
Email: rhoop@vetbakt.unizh.ch;
ivb@vetbakt.unizh.ch

The Netherlands

Guus Koch
Institute of Animal Science and Health Division
Statutory Task and Notifiable Disease
Houtribweg 39 8222RA Lelystad
Postal address: Postbox 35 8200 AB Lelystad, The
Netherlands
Phone:++31 320 238238 extension 238609
Fax:++31 320 238668
Email: g.koch@id.wag-ur.nl

United kingdom

Dennis J. Alexander
VLA Weybridge
New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, United
Kingdom
Phone:++44 1932 34 11 11
Fax:++44 1932 35 78 56
Email: d.j.alexander@vla.defra.gsi.gov.uk

OIE REFERENCE LABORATORIES

(http://www.oie.int)
D.J. Alexander
VLA Weybridge
New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB
UNITED KINGDOM
Tel: (44.1932) 34.11.11 Fax: (44.1932) 35.78.56
Email: d.j.alexander@vla.defra.gsi.gov.uk

A.J. Della-Porta
CSIRO, Australian Animal Health Laboratory,
Division of Animal Health, Institute of Animal
Production and Processing
Pyrie Street, Private Bag 24, Geelong, Victoria
3220
AUSTRALIA
Tel: (61.3) 52.27.50.00 Fax: (61.3) 52.27.55.55
Email: tony.della-porta@dah.csiro.au

E.F. Kaleta
Institut für Geflügelkrankheiten der
Justus-Liebig-Universität Giessen
Frankfurter Strasse 91, 35392 Giessen
GERMANY
Tel: (49.641) 993.84.30 Fax: (49.641) 20.15.48
Email: erhared.f.kaleta@vetmed.uni-giessen.de

B. Panigrahy
National Veterinary Services Laboratories
P.O. Box 844, Ames, IA 50010
UNITED STATES OF AMERICA
Tel: (1.515) 663.75.51 Fax: (1.515) 663.73.48
Email: brundaban.panigrahy@aphis.usda.gov

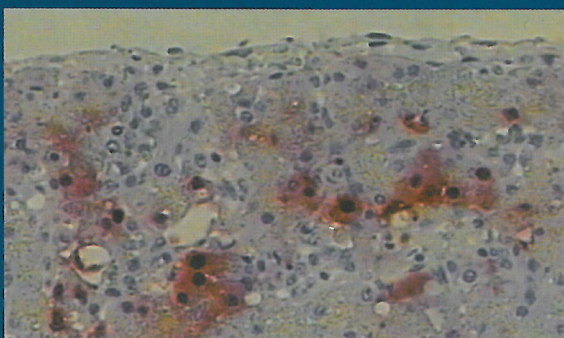
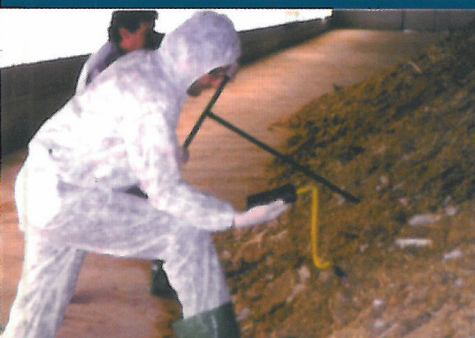
I. Capua
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle
Venezie, Virology Department
Via Romea 14/a, 35020 Legnaro, Padova
ITALY
Tel: (39.049) 808.43.69 Fax: (39.049) 808.43.60
Email: icapua@izsvenezie.it

1. Alexander DJ: A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 74, 3-13, 2000
2. Alexander DJ: The history of avian influenza in poultry. *World Poultry* [No. Special], 7-8, 2000
3. Alexander DJ, Spackman D: Characterization of influenza A viruses isolated from turkeys in England during March-May 1979. *Avian Pathol* 10, 281-293, 1981
4. Allwright DM, Burger WP, Geyer A, Terblanche AW: Isolation of an influenza A virus from ostriches (*Struthio camelus*). *Avian Pathol* 22, 59-65, 1993
5. Capua I, Marangon S: The avian influenza epidemic in Italy (1999-2000): a review. *Avian Pathol* 29, 289-294, 2000
6. Capua I, Marangon S, Dalla Pozza M, Mutinelli F, Vincenzi G, Santucci U: The low pathogenicity avian influenza (H7N1) epidemic in the Veneto region, Italy. *In: Proceedings of the Sixth Joint Annual Meeting of the EU Reference Laboratories for Newcastle Disease and Avian Influenza-Bruxelles* 29-30 November 1999. pp 66-72, 1999
7. Capua I, Mutinelli F: Mortality of Muscovy ducks (*Cairina moschata*) and domestic geese (*Anser anser* var. *domestica*) following natural infection with highly pathogenic avian influenza of the H7N1 subtype. *Avian Pathol* 30, 179-183, 2001
8. Capua I, Mutinelli F, Bozza MA, Terregino C, Cattoli G: Highly Pathogenic avian influenza (H7N1) in ostriches (*Struthio camelus*). *Avian Pathol* 29, 645-648, 2000
9. Capua I, Mutinelli F, Marangon S, Alexander DJ: H7N1 Avian Influenza in Italy (1999-2000) in intensively reared chickens and turkeys. *Avian pathol* 29, 537-543, 2000
10. Centanni E, Savonuzzi E: La peste aviaria. *Atti dell' Accademia delle Scienze Mediche e Naturali di Ferrara*. 111-123, 1901
11. Garcia M, Crawford JM, Latimer JW, Rivera-Cruz E, Perdue ML: Heterogeneity in the haemagglutinin gene and emergence of the highly pathogenic phenotype among recent H5N2 avian influenza viruses from Mexico. *J Gen Virol* 7: 1793-1504, 1996
12. Jørgensen PH, Nielsen OL, Hansen HC, Manvell RJ, Banks J, Alexander DJ: Isolation of influenza virus subtype H5N2, and avian paramyxovirus type 1 from a flock of ostriches in Europe. *Avian Pathol* 27, 15-20, 1998
13. Koch G: Report of disease incidence of avian influenza in The Netherlands in 1994. *In: Proceedings of the Joint II Annual Meeting of the National Newcastle Disease and Avian Influenza Laboratories of Countries of the European Union, Brussels, 1994*, pp. 11-12, 1995

14. Panigrahy B, Senne DA: Subtypes of avian influenza virus isolated from exotic birds and ratites in the United States, 1992-1996, *In: Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza* (DE Swayne and RD Slemons, eds.) 29-31 May 1997, Athens Georgia. U.S. Animal Health Association, Richmond, Virginia, 70-75, 1998
15. Perroncito E.: Epizootia tifoide nei gallinacei. *Annali Accademia Agricoltura Torino* 21, 87-126, 1878
16. Rott R: The pathogenic determinant of influenza virus. *Vet Microbiol* 33, 303-310, 1992
17. Suarez DL, Schultz Cherry S: Immunology of avian influenza virus: a review. *Develop Comp Immunol* 24, 269-283, 2000
18. Swayne DE, Geck JR, Garcia M., Perdue ML, Brugh M: Pathogenicity shifts in experimental avian influenza virus infections in chickens. *In: Proceedings of the Fourth International Symposium on Avian Influenza* (DE Swayne and RD Slemons, eds.). 29-31 May 1997, Athens Georgia. U.S. Animal Health Association, Richmond, Virginia, 171-181, 1998
19. Swayne DE, Suarez DL: Highly pathogenic avian influenza. *Rev sci tech Off Int Epiz* 19, 463-482, 2000
20. Wood GW, Banks J, Brown IH, Strong I, Alexander DJ: The nucleotide sequence of the HAI of the haemagglutinin of an H1 avian influenza isolate from turkeys in Germany provides additional evidence suggesting recent transmission from pigs. *Avian Pathol* 26, 347-355, 1997
21. Wood GW, Banks J, McCauley JW, Alexander DJ: Deduced amino acid sequences of the haemagglutinin of H5N1 avian influenza virus isolates from an outbreak in turkeys in Norfolk, England. *Arch Virol* 13, 185-194, 1994
22. Wood GW, McCauley JW, Bashiruddin JB, Alexander DJ: Deduced amino acid sequences at the haemagglutinin cleavage site of avian influenza A viruses of H5 and H7 subtypes. *Arch Virol* 130, 209-217, 1993

مراجع مربوط به یادداشت مترجمین

- A. Capua I, Alexander DJ: The challenge of avian influenza to the veterinary community. *Avian Pathol* 35(3), 189-205, 2006.
- B. Fouchier RAM, Munster V, Wallensten A, Bestebrol TM, Herfst S, Smith D, Rimmelzwaan GF, Olsen B, Osterhaus ADME: Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 79(5), 2814-22, 2005.
- C. http://www.oie.int/eng/AVIAN_INFLUENZALA_Fiches_IA.Pdf



AVIAN INFLUENZA

Dr. I. Capua
Dr. F. Mutinelli

Translated By:
Dr. J. Pazani Dr. P. Hesari

ISBN: 964-7546-09-2