



المنظمة العربية للتنمية الزراعية

الدورة التدريبية الإقليمية حول تشخيص مرض أنفلونزا الطيور وطرق الوقاية منه ووضع خطط احترازية لدرء أخطاره

عمان - المملكة الأردنية الهاشمية
2005/12/8-3



تقديم

تقديم

يمتلك الوطن العربي ثروة داجنة ضخمة ويعد قطاع الدواجن من أكثر القطاعات في الدول العربية نجاحاً إذ يقدر الإنتاج من لحم الدجاج بنحو 2870 ألف طن سنوياً وإنتاج البيض بحوالي 1397 ألف طن (إحصاءات المنظمة العربية للتنمية الزراعية لعام 2004)، مما يعد مؤشراً واضحاً لأهمية صناعة الدواجن في الوطن العربي، والدور الذي تضطلع به هذه الصناعة في تحقيق الأمن الغذائي العربي وتوفير مصادر رخيصة نسبياً للغذاء، بالإضافة إلى توفير فرص الاستثمار والعمالة في هذا القطاع. هذا وتبلغ صادرات الدول العربية من لحوم الدواجن والبيض حوالي 82.5 مليون دولار سنوياً.

ويعتبر مرض أنفلونزا الطيور، والمعروف في السابق بطاعون الدجاج، من الأمراض الخطيرة والمميتة للطيور الداجنة وقد ينجم عن الإصابة معدلات نفوق عالية قد تبلغ 100%.

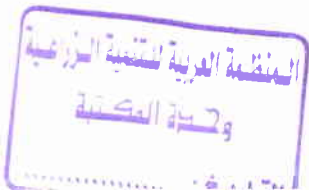
برغم أن فيروس أنفلونزا الطيور (H5N1) الشديد الضراوة كان معروفاً منذ العام 1996، إلا أن الأزمة الحقيقية التي سببها هذا الفيروس قد بدأت في آسيا أوائل عام 2004 بإعلان متزامن أن المرض بات يفتك بمئات الألوف من الدجاج والبط في أكثر من 10 بلدان، وأدى ذلك إلى نفوق أكثر من 140 مليون طائر إما بسبب المرض أو الإعدام الانتقائي كإجراء احترازي لمنع إنتشار المرض ودرء أخطاره. هذا وقد صاحب تفشي المرض في الطيور وفيات عديدة بين البشر، وأصبح الفيروس مهدداً لأسباب العيش لمئات الملايين من المزارعين وصناعة الدواجن بشكل عام، وأضحى عائقاً حقيقياً للتجارة الإقليمية والعالمية بحكم القواعد الصحية الدولية التي تحكم سلامة الأغذية ذات المصدر الحيواني بخاصة في حالة الأمراض من القائمة (A) وفق تصنيف المنظمة العالمية للصحة الحيوانية ومنها مرض أنفلونزا الطيور.

من ناحية أخرى، فإن للفيروسات المسببة لأنفلونزا الطيور خصائص مهمة جدية بالاعتبار إذ أنها عرضة للتغير البيولوجي، وذلك نتيجة لتبدل وراثي متواصل ناشئ عن إعادة تشكيل للمورثات وحدثت طفرات مما يؤدي لتغيرات في خصائص هذه الفيروسات ونتائج لا يمكن التنبؤ بها. لقد أثبت الفيروس (H5N1) والذي انتشر في العديد من الدول الآسيوية على أنه مميت للبشر، ويخشى العلماء من تحول محتمل للفيروس إلى نمط ذي إمكانية للانتقال بين أفراد البشر بما يطلق العنان لوباء عالمي. هذا وتحذر منظمة الصحة العالمية أنه في حالة حدوث جائحة فإن ما بين 5-150 مليون شخص على نطاق العالم قد يموتون وعلى نمط الوباء الذي حدث عامي 1918 و1919 والذي أودى بحياة 40 مليون شخص في أوروبا. وبحسب رأي خبراء عالميين أن هناك خطراً متزايداً لانتشار مرض أنفلونزا الطيور واحتمال تفشي الفيروس على نطاق واسع حيث لوحظ مؤشرات منذرة بالسوء وذلك بتقصي النمط الوبائي للمرض في الحيوان. وإزاء هذه المعطيات الخطيرة التي أصبحت تهدد قطاع الثروة الداجنة في الوطن العربي، وما لها من تأثير واضح على الأمن الغذائي العربي، فقد بادرت المنظمة العربية للتنمية الزراعية بإعداد وثيقة

لمشروع دعم البرامج الوطنية في الدول العربية لتعزيز قدراتها في التأهب للطوارئ واستعداداتها لمجابهة هذا المرض الخطير حيث يهدف هذا المشروع إلى الحد من خطر تعرض الإنسان في الدول العربية للفيروس المسبب للمرض، وحماية قطاع الدواجن عن طريق درء أخطار هذا المرض.

ونسبة لما يمثله تدريب الكوادر البيطرية من أهمية كبيرة في تفعيل نظم الكشف المبكر للمرض في بؤره الريفية قبل استفحاله. إضافة إلى أهمية التشخيص المخبري الدقيق للمرض والحاجة لتفعيل برامج الاستقصاء والرصد والمراقبة وتحليل المخاطر وتطبيق قواعد الأمان الحيوي يتطلب ذلك استخدام الوسائل الناجعة في التشخيص المخبري والاستقصاء وتقويتها وذلك بتحديث الأجهزة المخبرية ونظم المعلوماتية وتوفير كوادر فنية ذات مستوى عال من التدريب. ونظرا للخطر الكبير الذي يمثله مرض أنفلونزا الطيور على الصحة الحيوانية والبشرية والأضرار الجسيمة التي يمكن أن يلحقها باقتصاديات الدول، وتمشياً مع برنامج المنظمة للتطوير والتحديث والخاص بمساهمة المنظمة في معالجة القضايا الرئيسية المؤثرة على الأمن الغذائي العربي بخاصة تلك المتعلقة بنظم الطوارئ للوقاية من الأمراض والأوبئة الحيوانية العابرة للحدود ذات الطابع الإقليمي فقد قامت المنظمة وبالتعاون مع وزارة الزراعة بالمملكة الأردنية الهاشمية بتنفيذ دورة تدريبية قومية طارئة في مجال تشخيص مرض أنفلونزا الطيور وطرق الوقاية منه ووضع خطط احترازية لدرء أخطاره خلال الفترة 2005/12/8-3 بعمان وفيما يلي التقرير عن هذه الدورة.

الدكتور سالم اللوزي
المدير العام



المحتويات

Avian Influenza Food Safety Implications

Amani Khudeir
DVM-MSc
Food Hygienist
MoA-Jordan

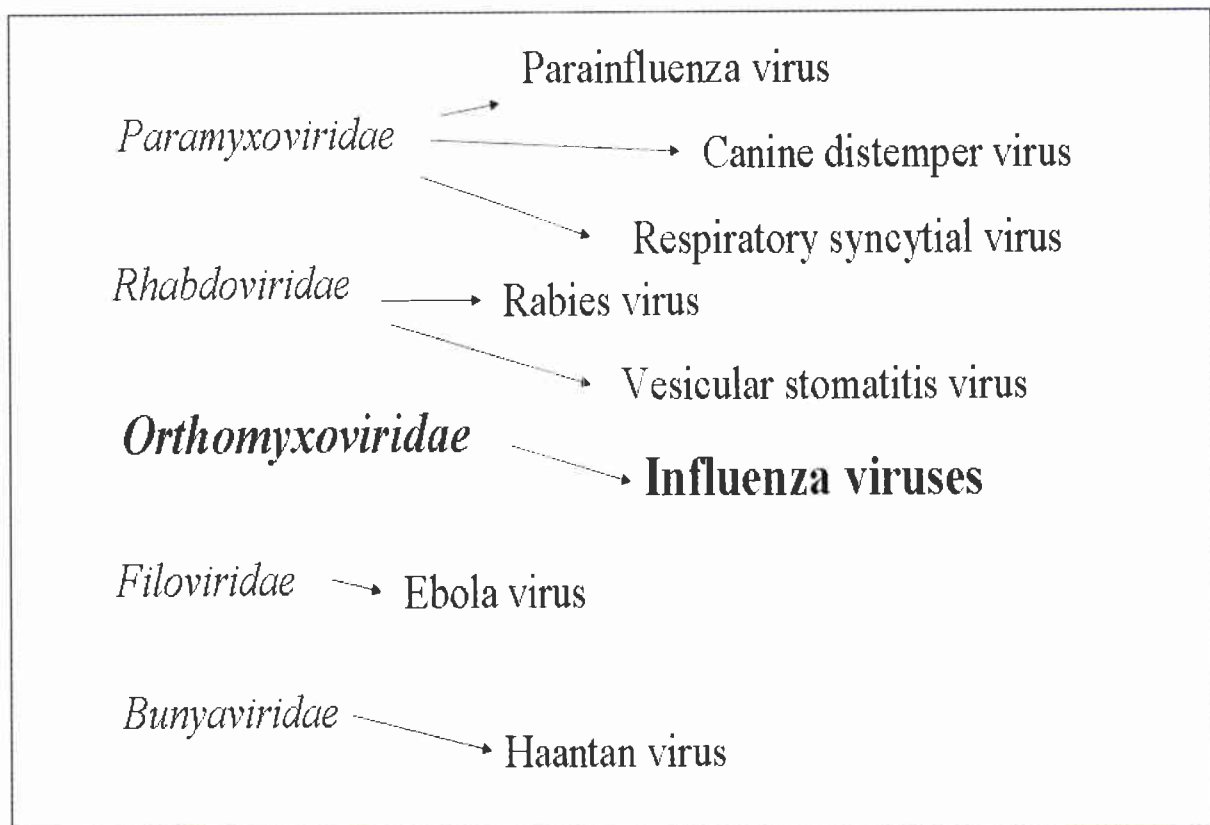
Avian Influenza

Dr. Mohammad Q . Al-Natour
D.V.M., M.P.H., Ph.D

A.I. History

- 1878 fowl plague was described (Italy)
- 1901 fowl plague is caused by a virus
- 1955 it is type A influenza virus
- 1970 AGP test introduced
- 1972 waterfowl is a reservoir
- 1979 virulence and hemagglutinin cleavability was established
- 1997 direct transmission of H5 AIV from bird to humans

Viruses with -ve RNA genomes Orthomyxoviridae

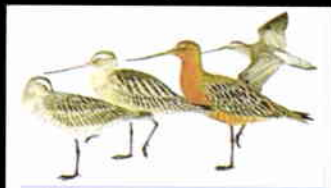
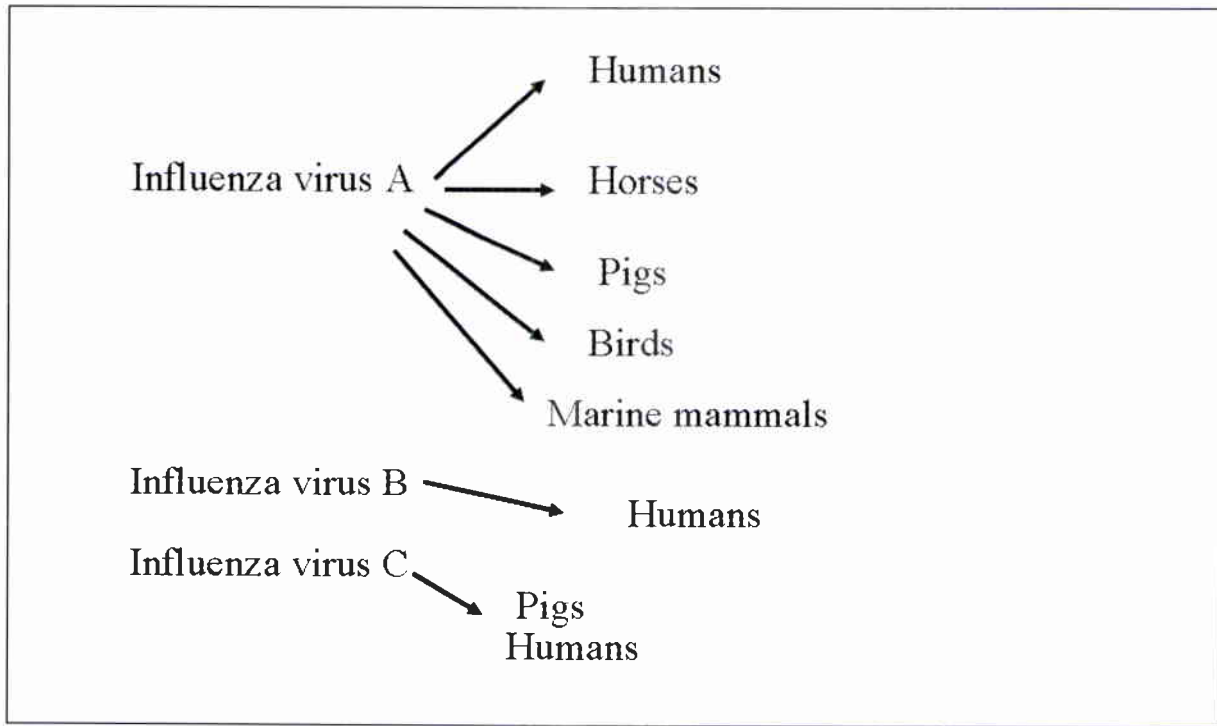


المحتويات

البيان	أرقام الصفحات
تقديم	I
المحتويات	II
المحاضرات	
Avian Influenza Dr. Mohammad Q . Al-Natour	57-1
Avian Influenza Vaccines Saad Gharaibeh	73-58
Biosecurity for Poultry at all Levels Dr. Yasin Amro and Eng. Nissreen Lutfi	87-74
P C R Ruba AL - Omari	105-88
Avian Influenza : Food Safety Implications Amani Khudeir	108-106
تقييم خطورة انتقال مرض أنفلونزا الطيور للإنسان د. لييب الشريف	110-109
خطة وزارة الزراعة لمواجهة مرض أنفلونزا الطيور و الإمكانيات المتوفرة د. فارس البخيت	114-111
التشخيص المخبري لمرض أنفلونزا الطيور د. هشام المعاينة	123-115
طرق مكافحة مرض أنفلونزا الطيور د. طلال نصار	132-124
الاستراتيجيات العالمية في مواجهة مرض أنفلونزا الطيور د. زياد علي المومني	135-133
وبائية أنفلونزا الطيور والإجراءات المتخذة لمواجهة الوباء العالمي الدكتور عادل البابيسي	147-136
التشريعات الخاصة بمرض أنفلونزا الطيور في الأردن وإجراءات الحجر البيطري د. رندة العكشة	150-148
الاستقصاء الوبائي الفيروسي و المصلي لمرض الأنفلونزا Abu Rumman Mohammed	156-151
كلمة معالي الدكتور سالم اللوزي مدير عام المنظمة العربية للتنمية الزراعية	159-157
كلمة معالي الدكتور عاكف الزعبي وزير الزراعة بالمملكة الأردنية الهاشمية	161-160
أسماء المشاركين	163-162
التوصيات	164

المحاضرات

Orthomyxoviridae



Bar-tailed Godwit (*Limosa lapponica*)



Redshank (*Tringa totanus*)



Rufous-necked Stint (*Calidris ruficollis*)



Terns



Common Tern (*Sterna hirundo*)



Black-bellied Plover/Gray Plover

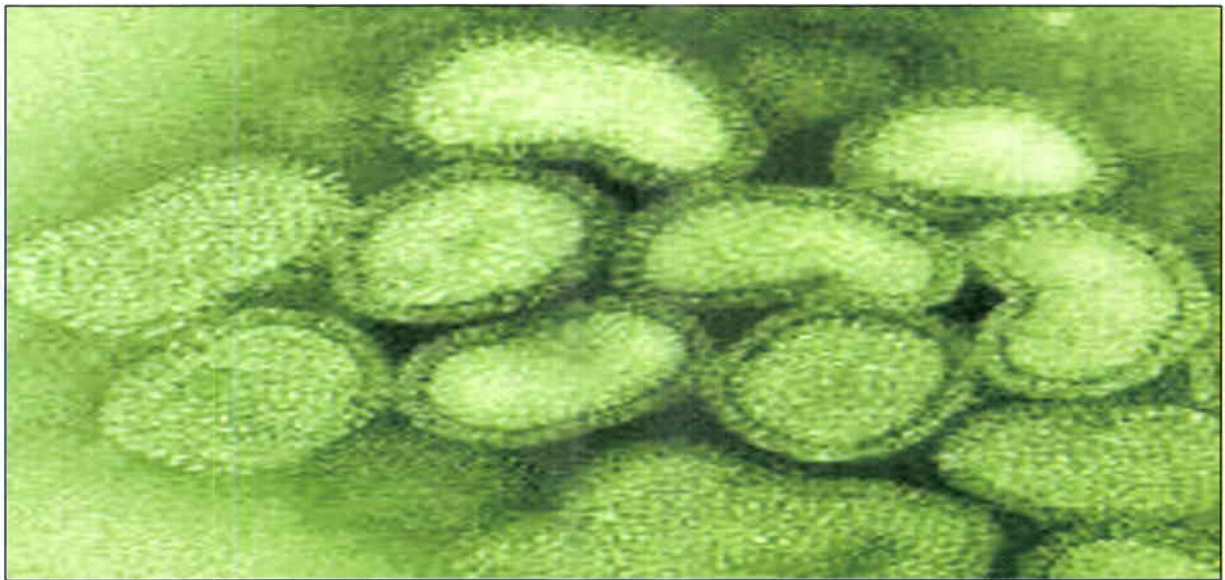


Little Tern (*S. albigularis*)

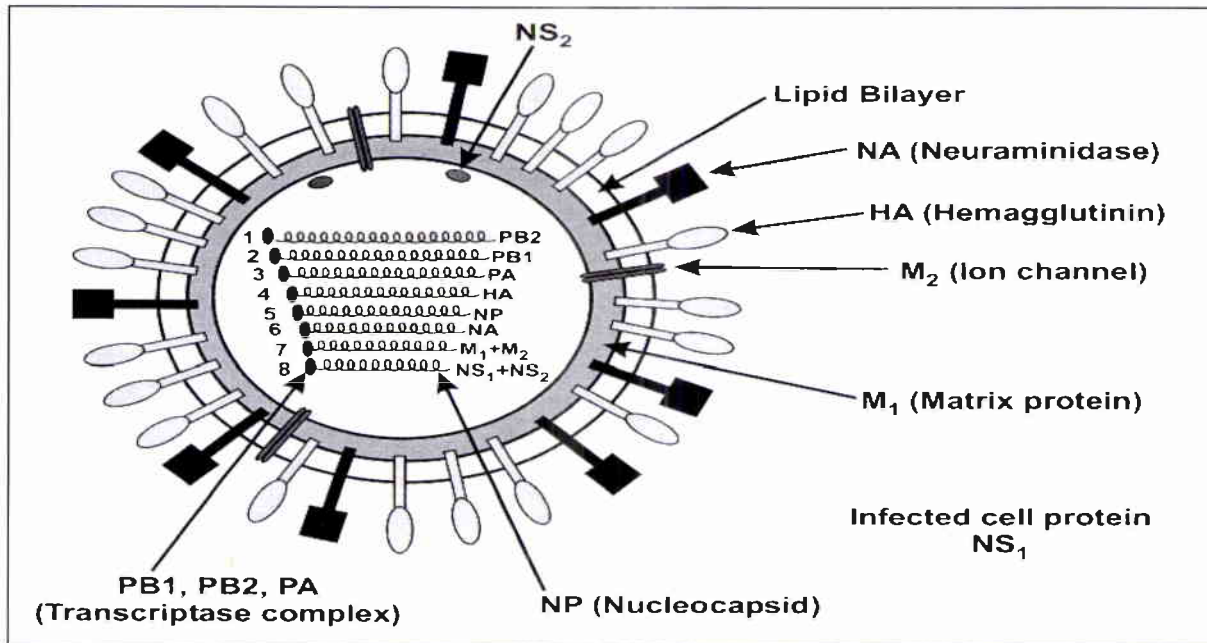


A.I. Virus

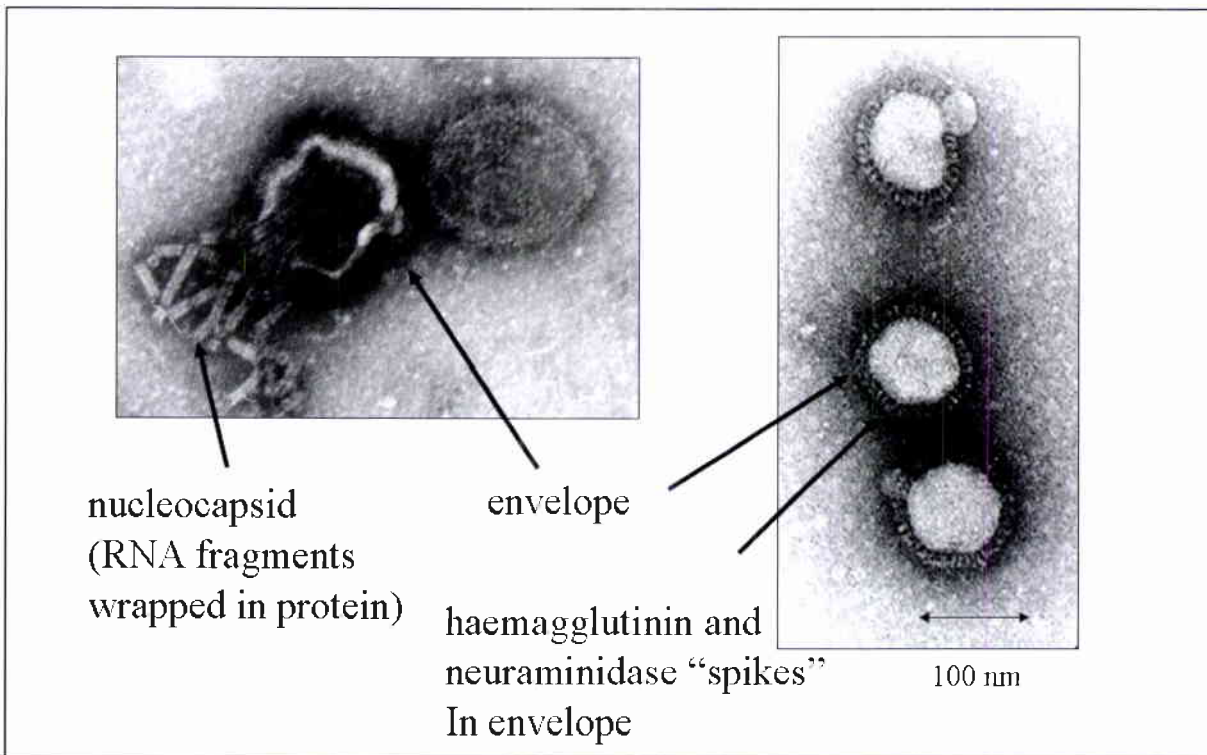
- Single stranded RNA –ve
- Segmented: 8 genes cod for 10 proteins
- Two glycoprotein surface projection:
 - Haemagglutinin (HA): H1-H16
 - Neuraminidase (NA): N1-N9

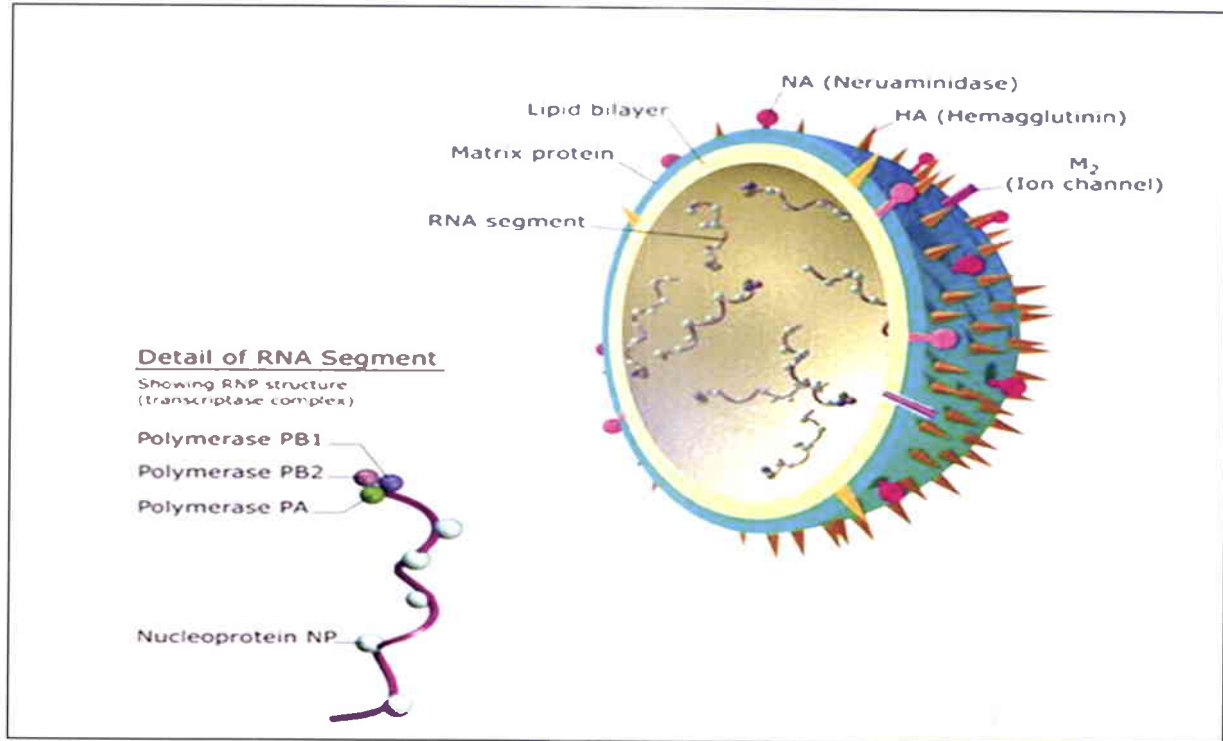


- Enveloped: Sensitive to heat, dryness and normal disinfectants
- Antigenic types A, B, C
- Pathogenicity vary

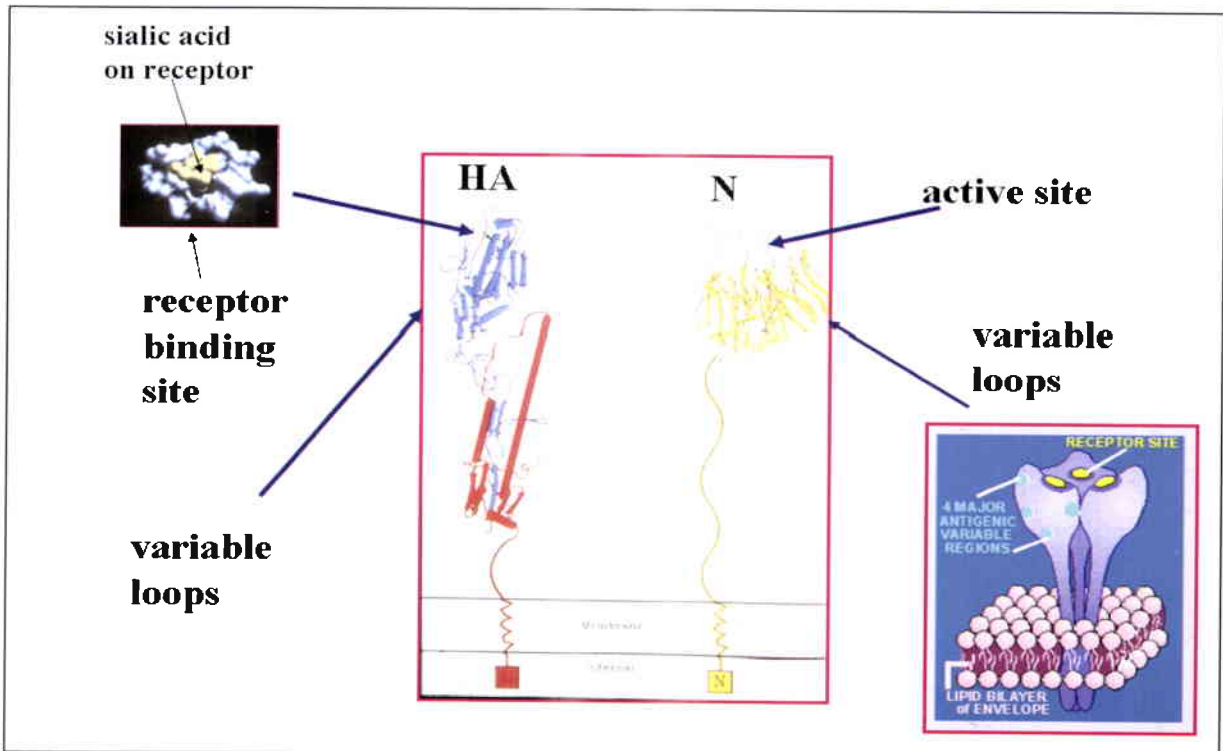


Influenza virions





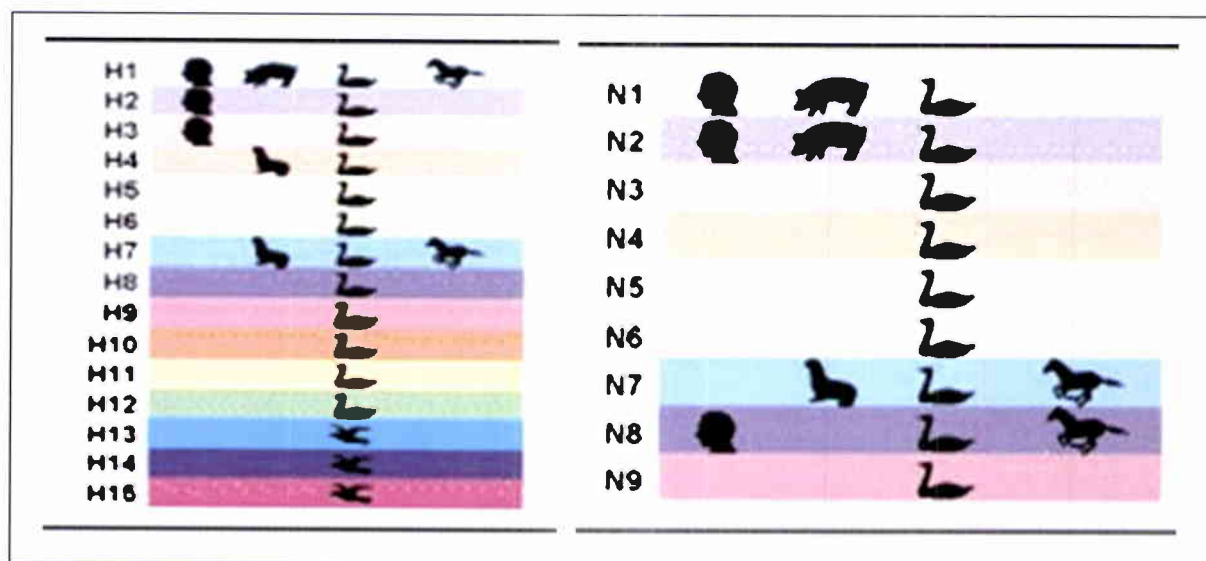
Haemagglutinin and Neuraminidase



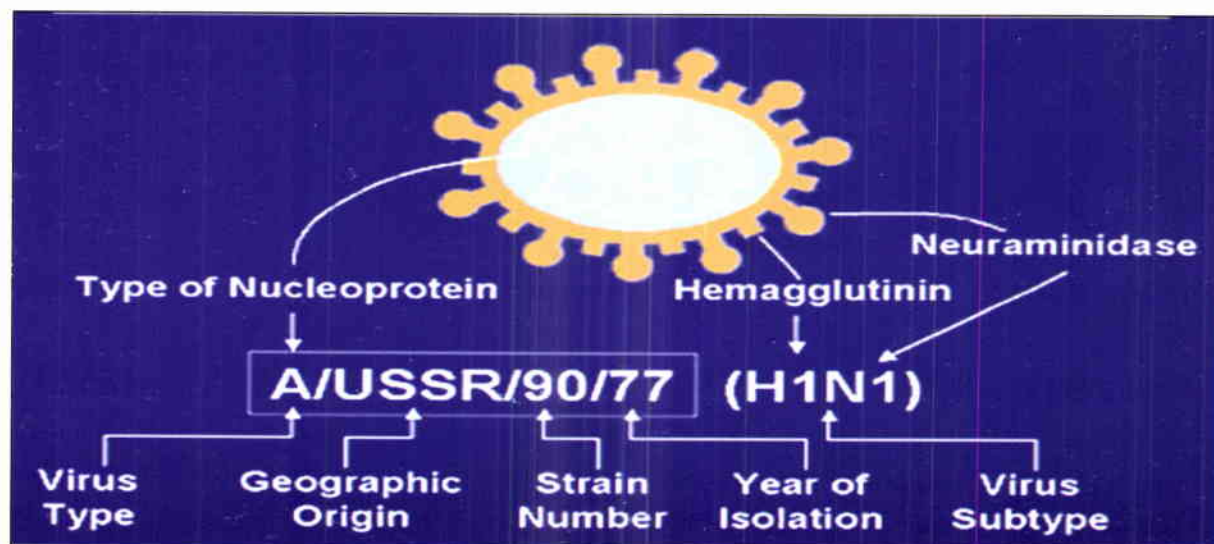
Key properties of type A influenza virus

- Multiple serotypes
- Wide spectrum of pathogenicity
- Wide host range
- Global, Turkeys > Chicken
- International trade
- HPAI subtypes H5, H7

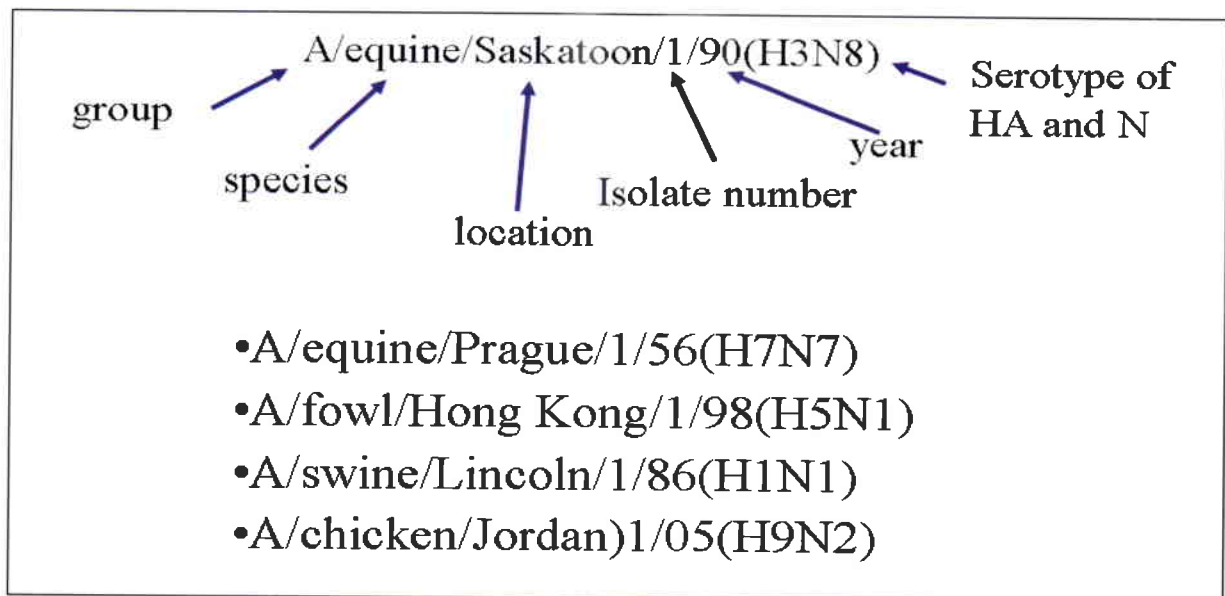
Distribution of HA serotypes in nature



Influenza Virus Nomenclature



Nomenclature



Evolution and Spread of flu viruses

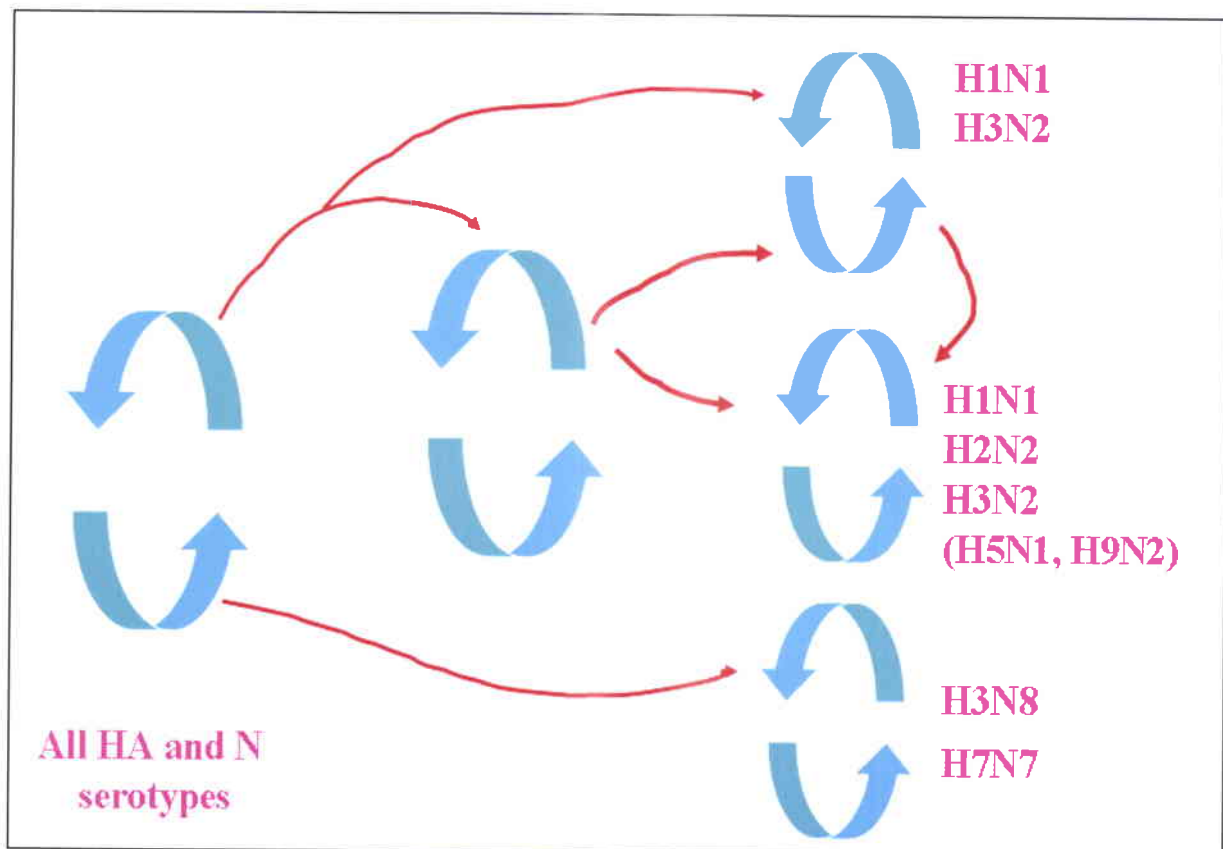


Figure 1. Historical influenza disease cycle

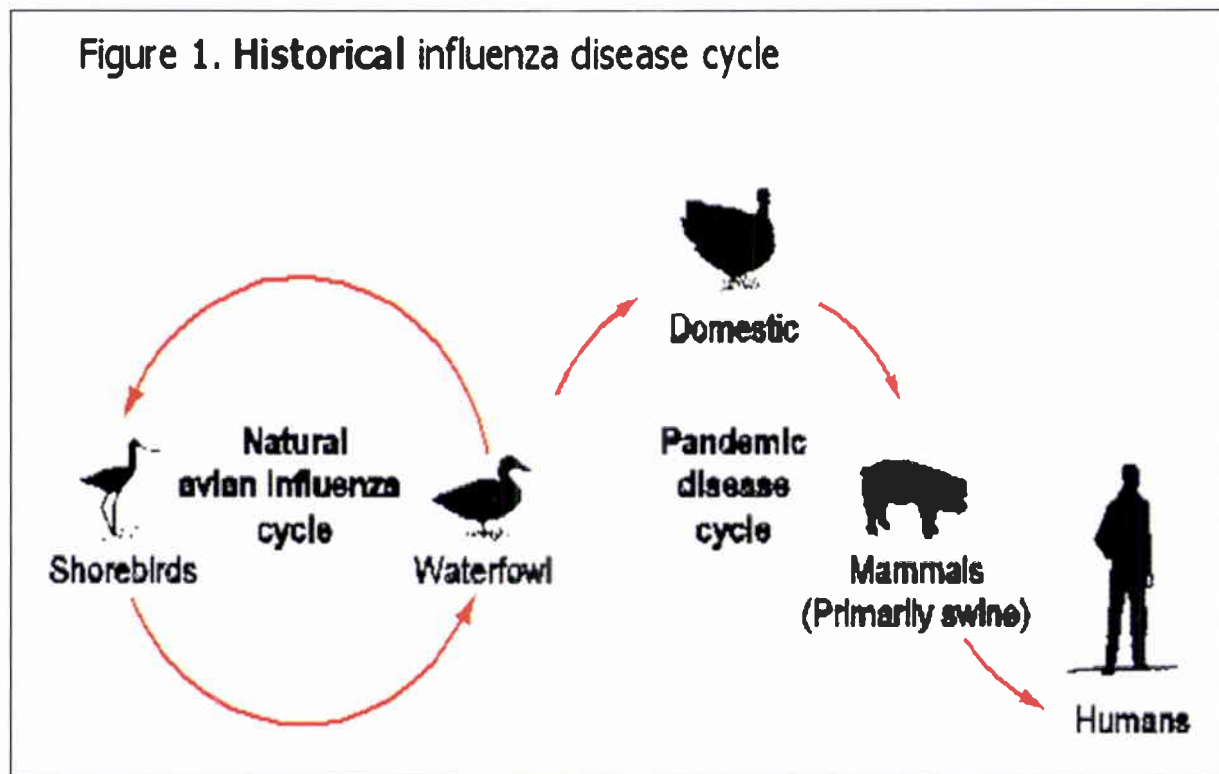
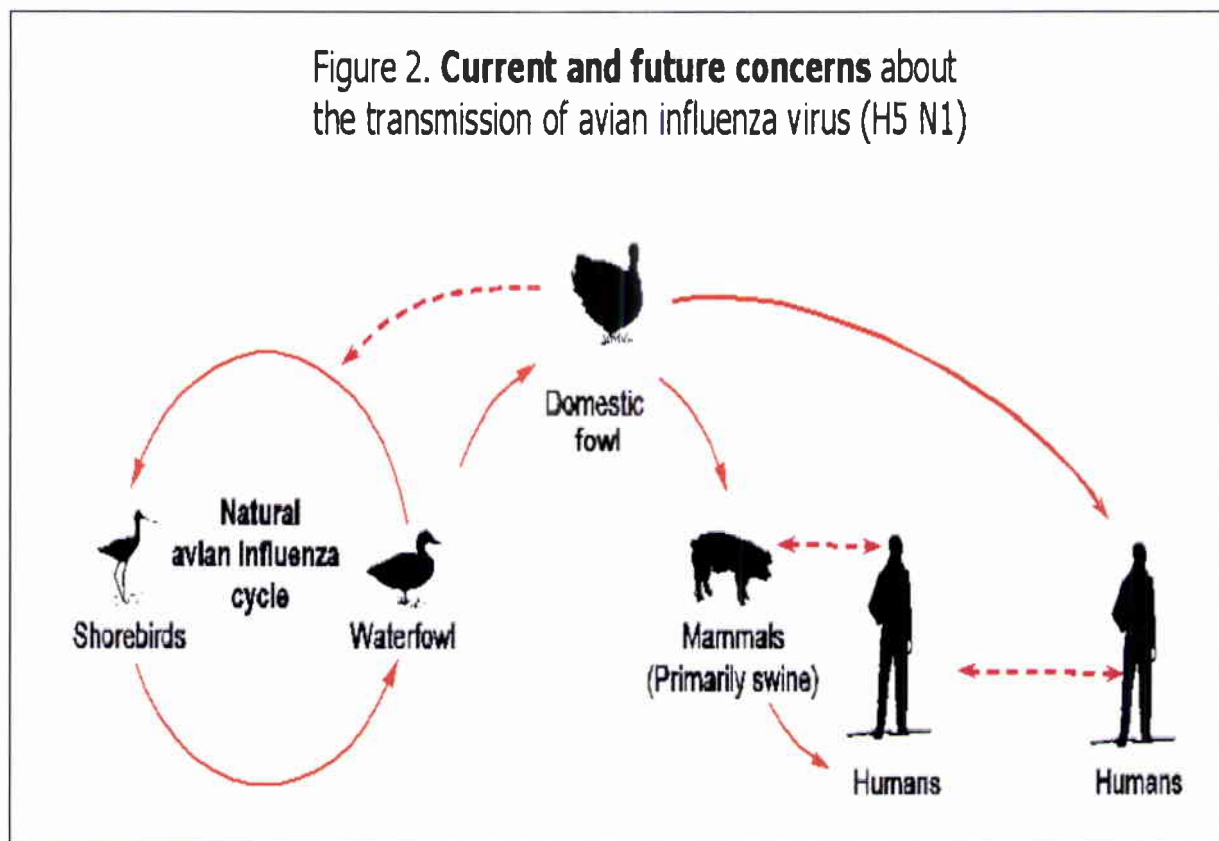


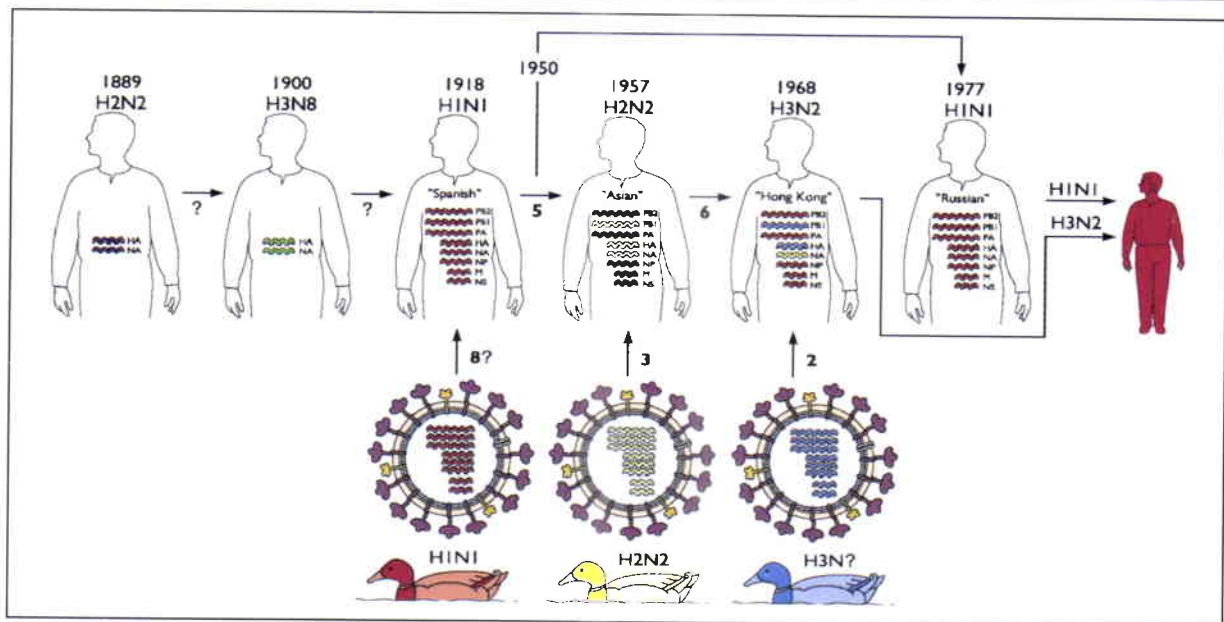
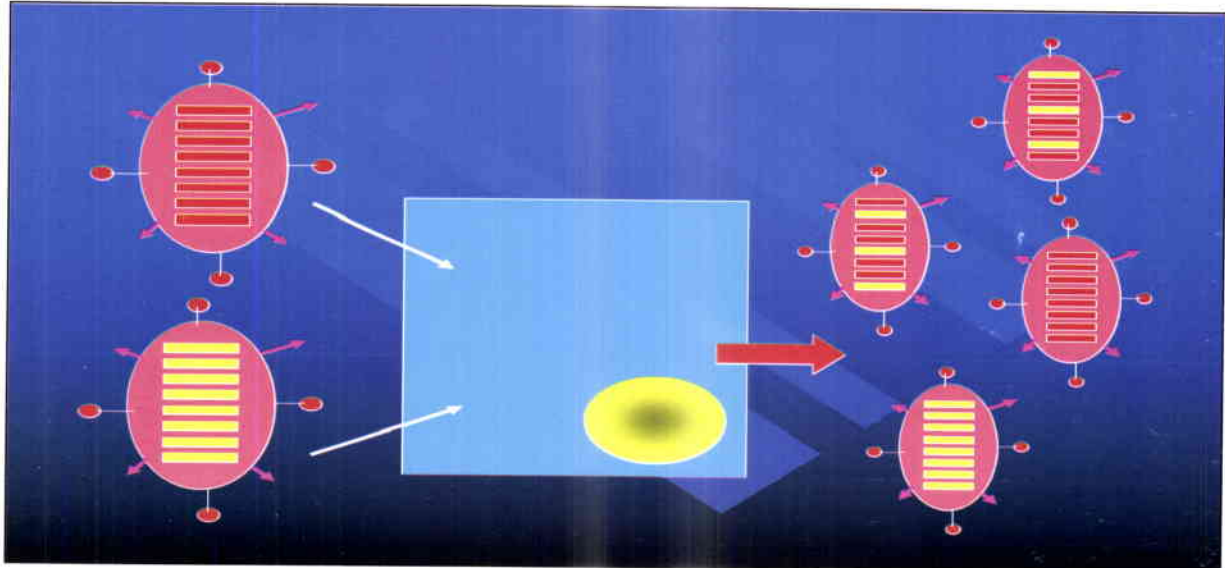
Figure 2. Current and future concerns about the transmission of avian influenza virus (H5 N1)



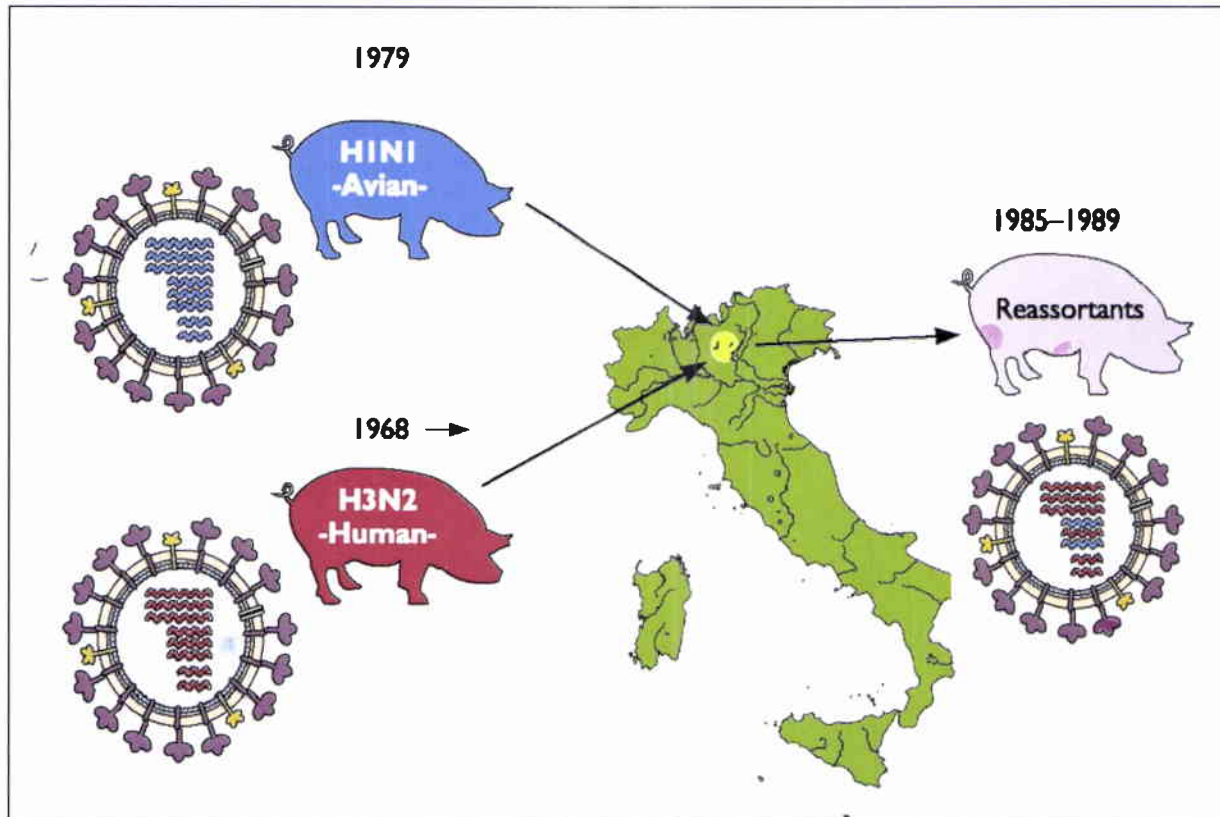
Factors that sustain epizootics/epidemics

- Antigenic drift: Minor antigenic change in the HA and or NA {Point mutation in the gene coding for HA / NA}
- Reassortment and antigenic shift: Major antigenic change in the HA and or NA
- Segment reassortment: when cell is infected with 2 different influenza viruses
- Short term immunity
- Cross species transfer

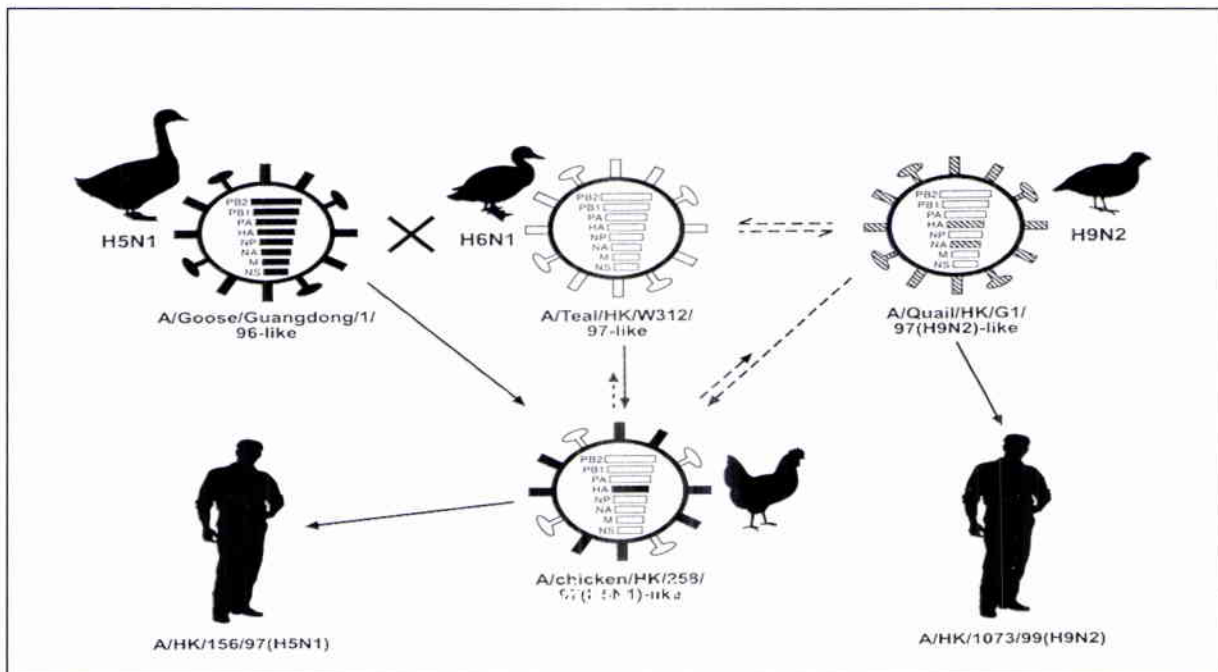
Reassortment



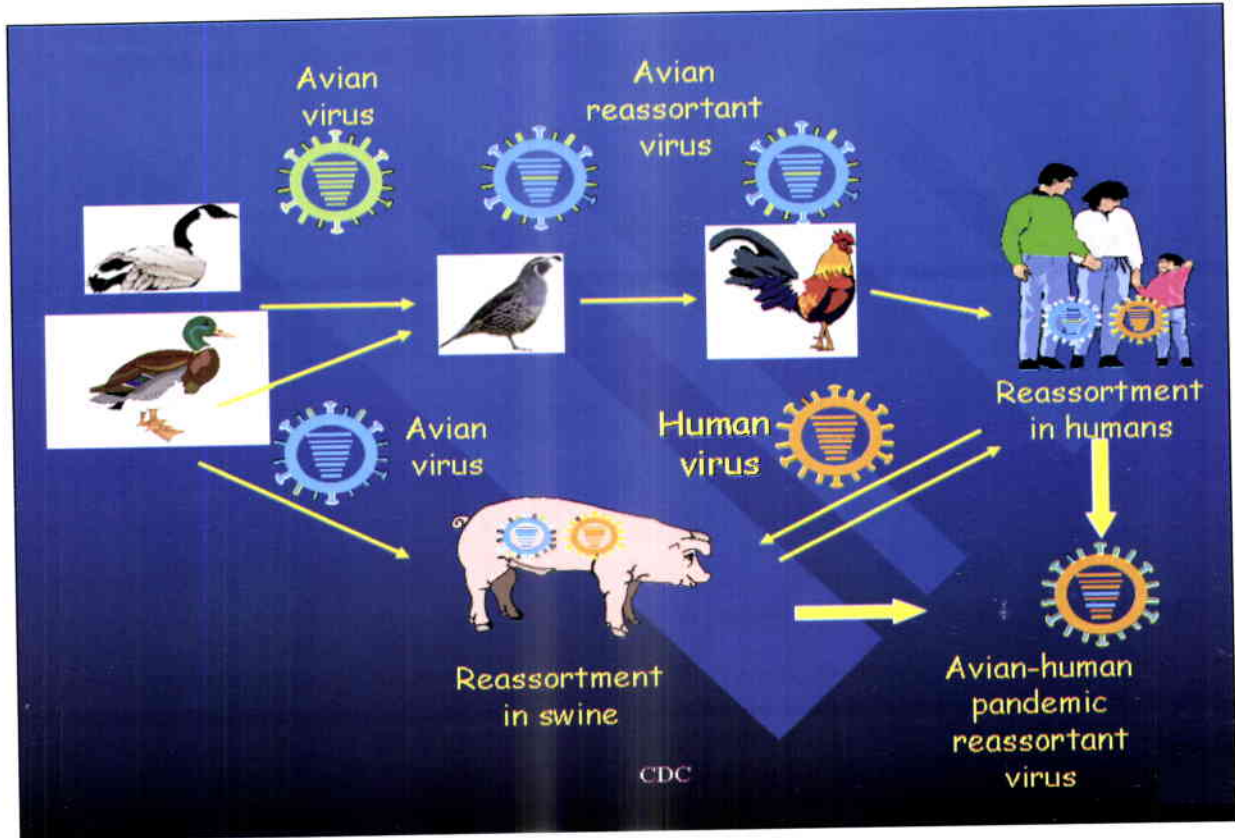
The pig is the mixing vessel



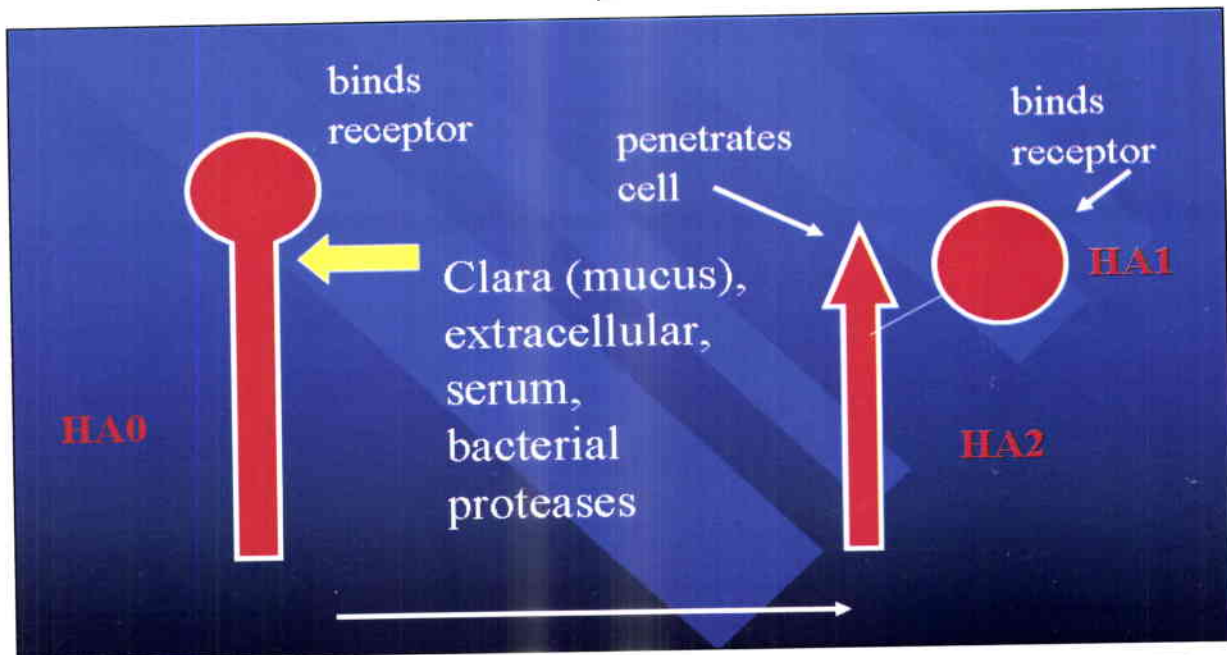
The pig is not always needed



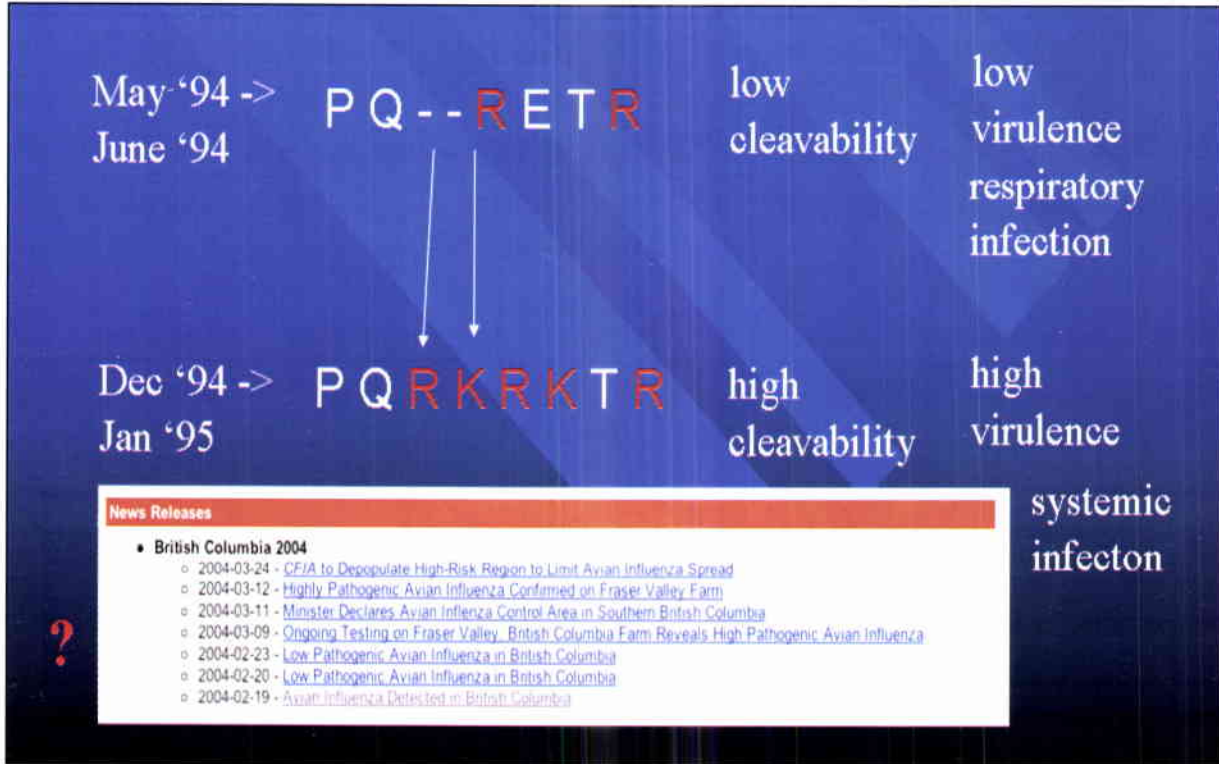
Generation of Pandemic Influenza Strain



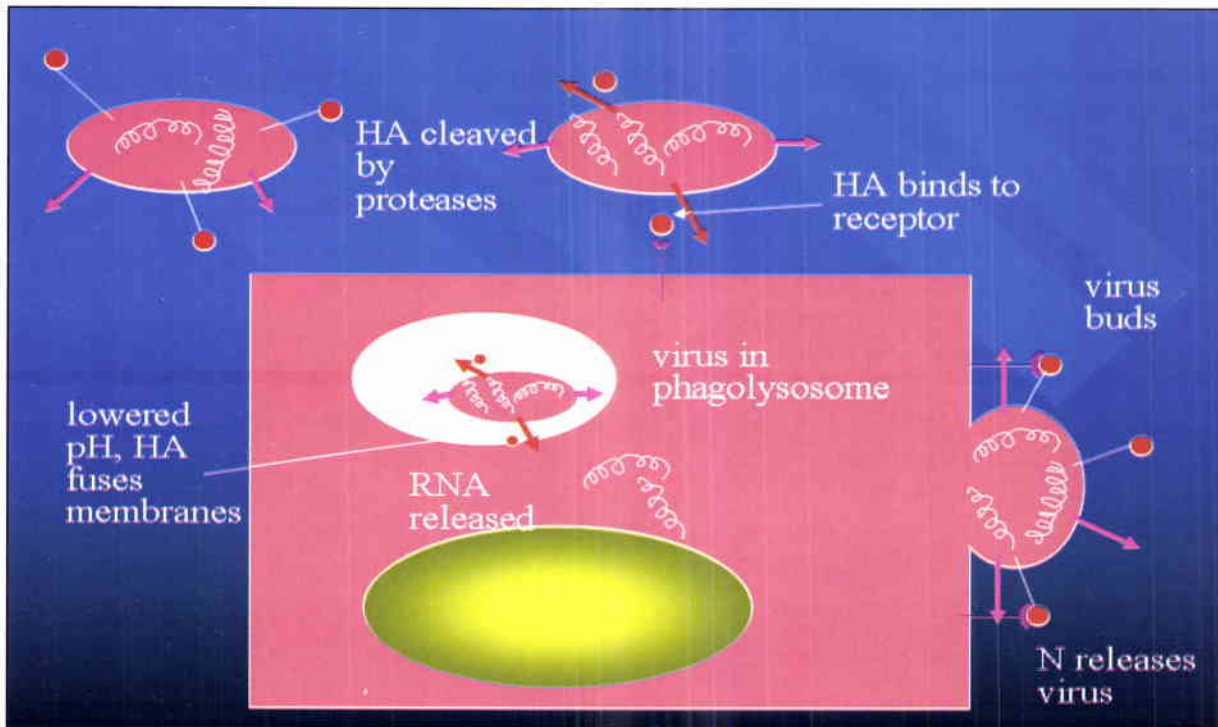
Cleavage of HA

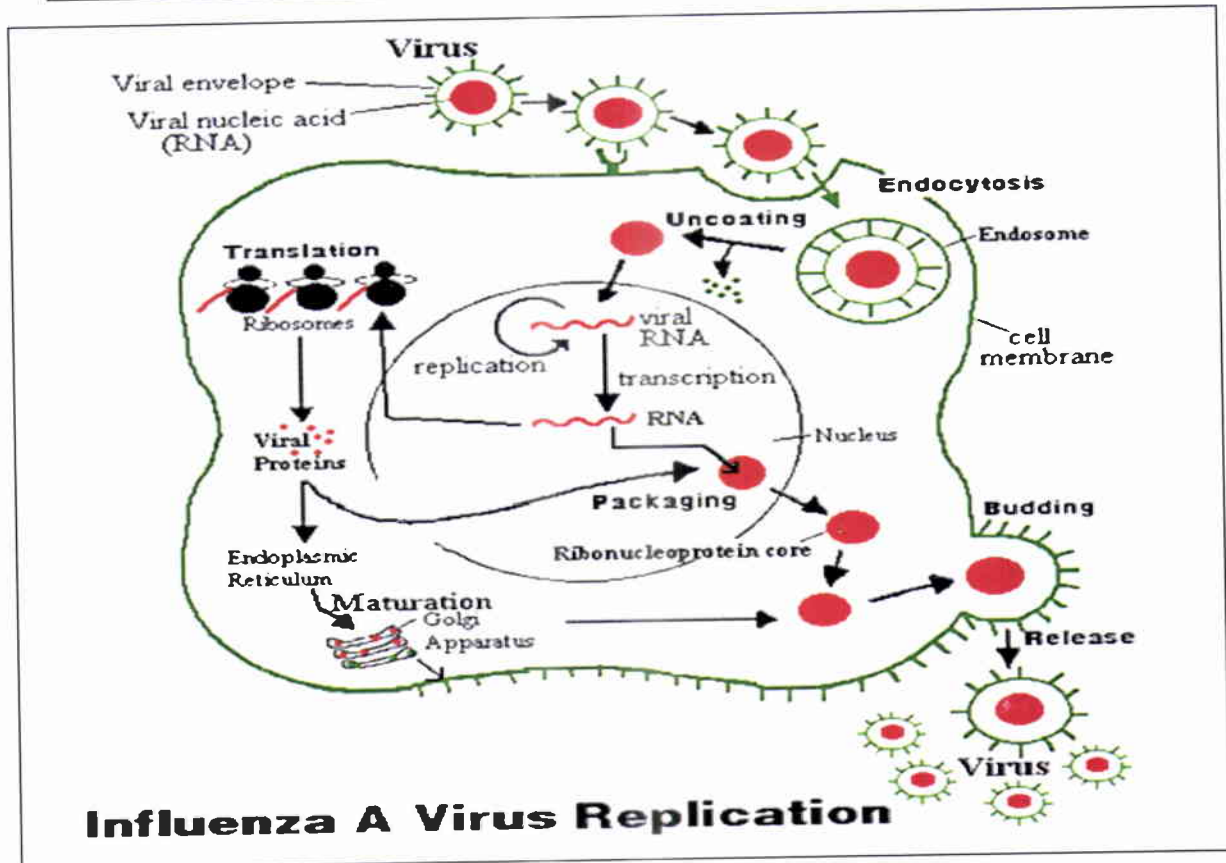


HA cleavage and virulence



Influenza virus replication





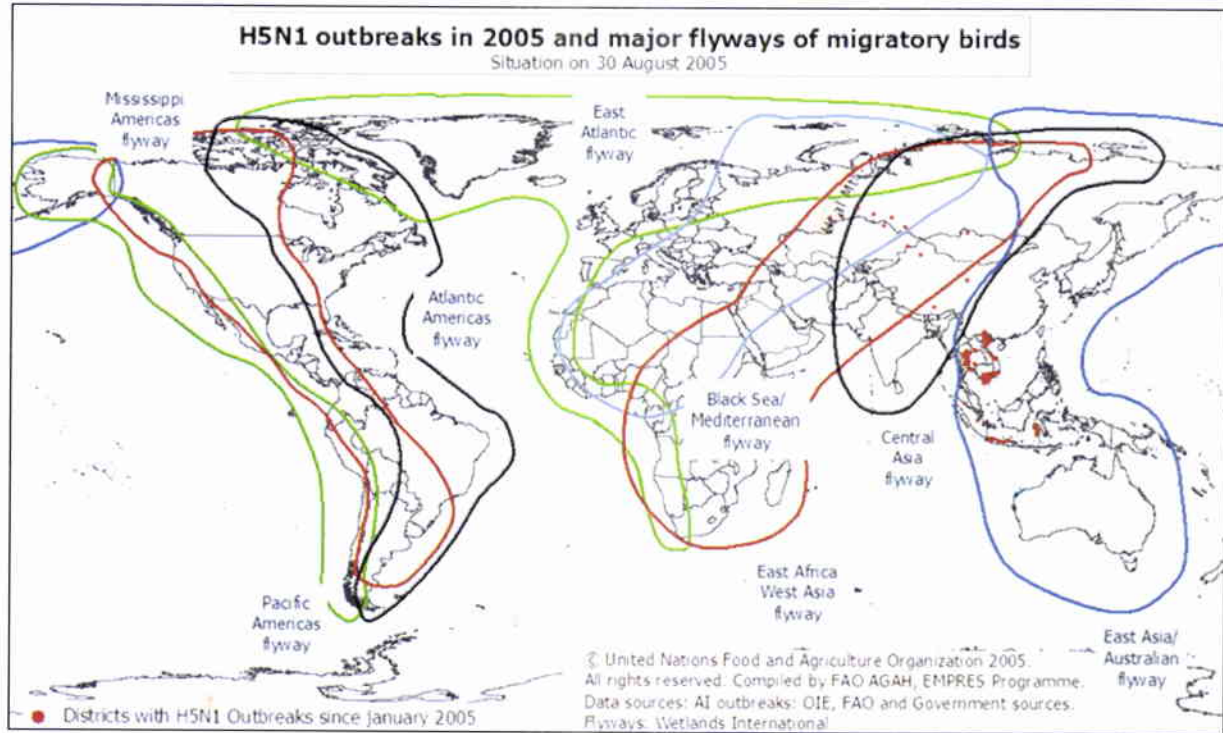
Avian Influenza

What is it?

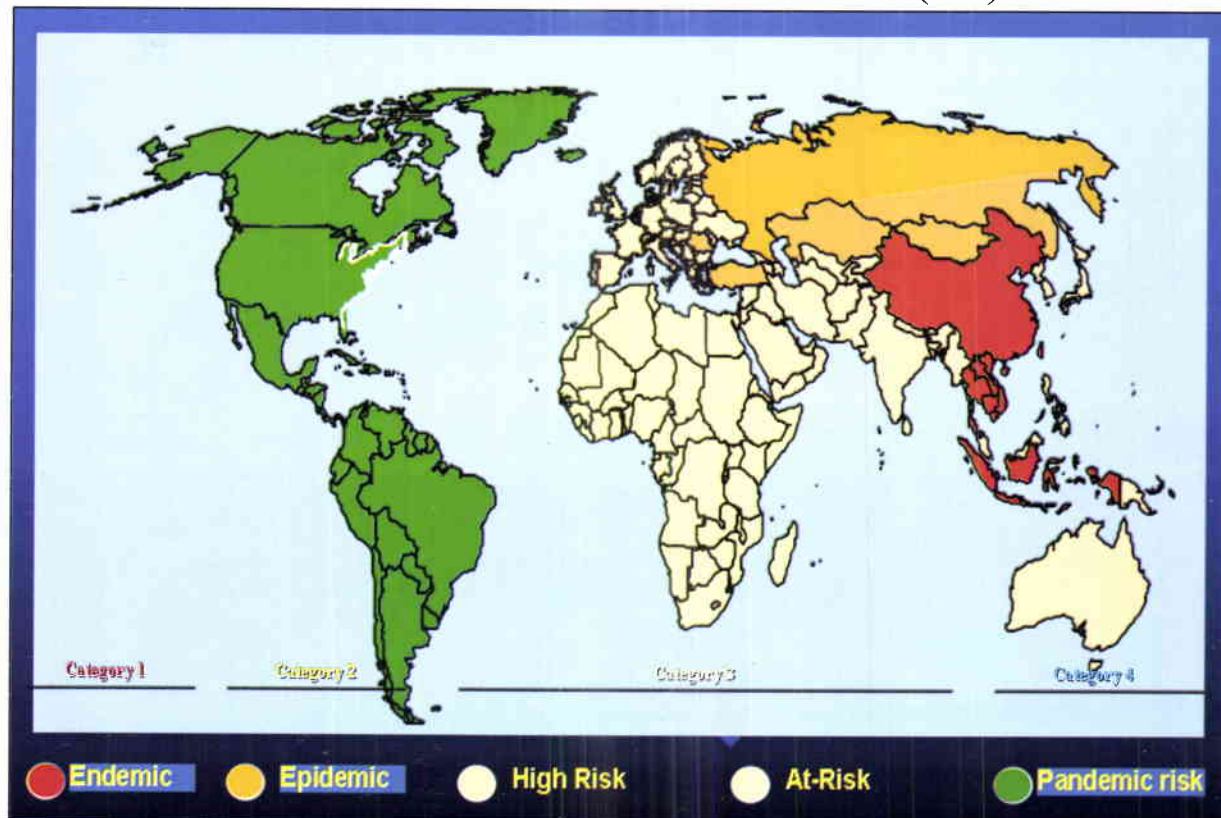


Avian Influenza

- Similar to virus that causes human flu
- World wide: Migratory water fowl
- Very contagious: Spreads easily
- The disease is of great economic significance to the poultry industry
- Incubation period: 3-14 days
- Now AI is a zoonotic: Since 1997 Hong Kong virus



Global Risk of AI Outbreaks (05)



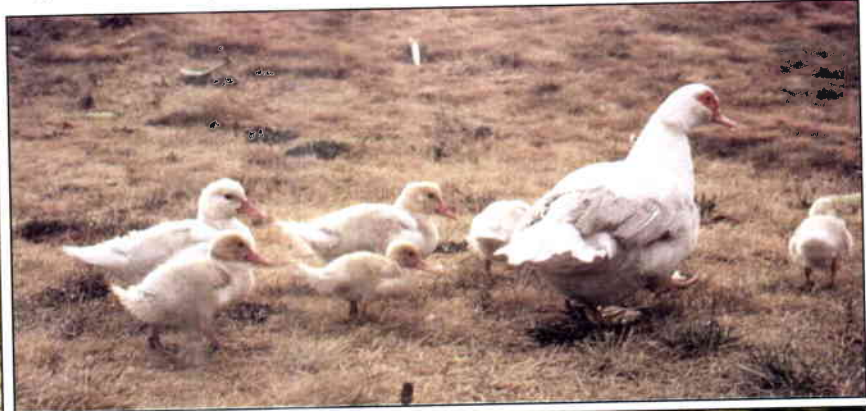
Economic significance of H5N1 AI

Disease	Country	Year	Impact	Cost (\$US)
'mad cow'	UK	1990-98	Beef export	9 billion
Cholera	Peru	1991	Seafood export	770 million
Plague	India	1995	Tourism, trade	2 billion
H5N1 flu	Hong Kong	1997	Loss of poultry (1.5 million birds)	22 million
Cholera	Tanzania	1998	Seafood export	36 million
Nipah	Malaysia	1999	Loss of swine (0.9 million pigs)	540 million
West Nile	US	1999		400 million
SARS	Worldwide	2003	Tourism, trade	80 billion
H5N1 flu	SE Asia	2003-05	Loss of poultry (~140 million birds so far)	~10 billion? (and growing)

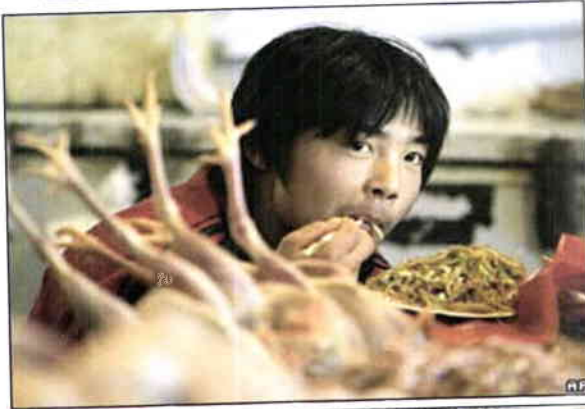
Sources: WHO, Institute of Medicine, FAO, OIE, Asian Development Bank, World Bank

Original source of the virus

- Waterfowl (ducks, geese, shorebirds)
- Live bird markets
- Quail
- Pigs

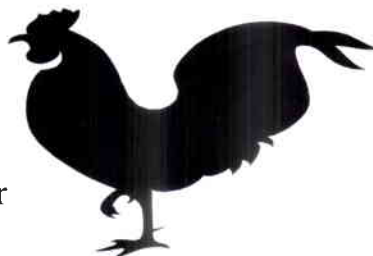






How does the virus spread?

- From the birds
 - Saliva
 - Nasal secretions
 - Feces (shit)
- Spread in organic matter
 - litter, feces
 - Can live for 1 week to 3 months
- Spread by:
 - People: shoes, clothes, nasal passages
 - Vehicles: especially in organic matter



Spread by:

- Grower/Employees
- Cleaning crew
- Live haul (chickens)
- Live haul (equipment,
- Poult trailer
- Shavings truck
- Rendering truck
- Servicemen
- Tractors
- Loading crew
- Feed truck
- Fuel truck
- Snow plow
- Trash truck
- Utilities vehicle
- Etc.



How does the LPAI virus affect poultry?

■ Chickens:

- May have no signs of disease (+ve serology)
- Decreased egg production (7-10 days 5-30%)
- Poor egg shell quality

■ Turkeys:

- Respiratory signs
 - » Snick (coughing)
 - » Mucous in the trachea
 - » Decreased food and water intake
- Plus decreased egg production and shell quality



How does the HPAI virus affect poultry?

- Very high morbidity and mortality
- Comb turns blue
- Swelling of head
- Hemorrhages on legs
- Coughing (snicking)
- Respiratory, nervous and enteric can be involved (similar to VVND)



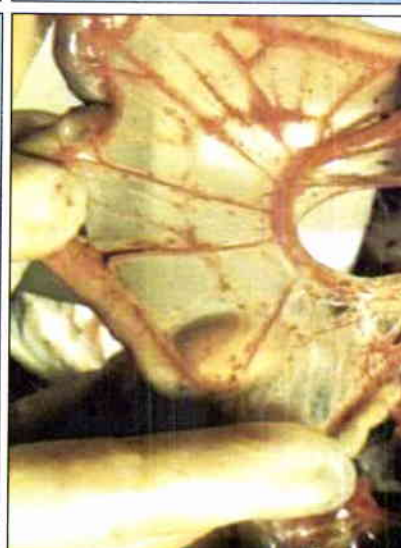


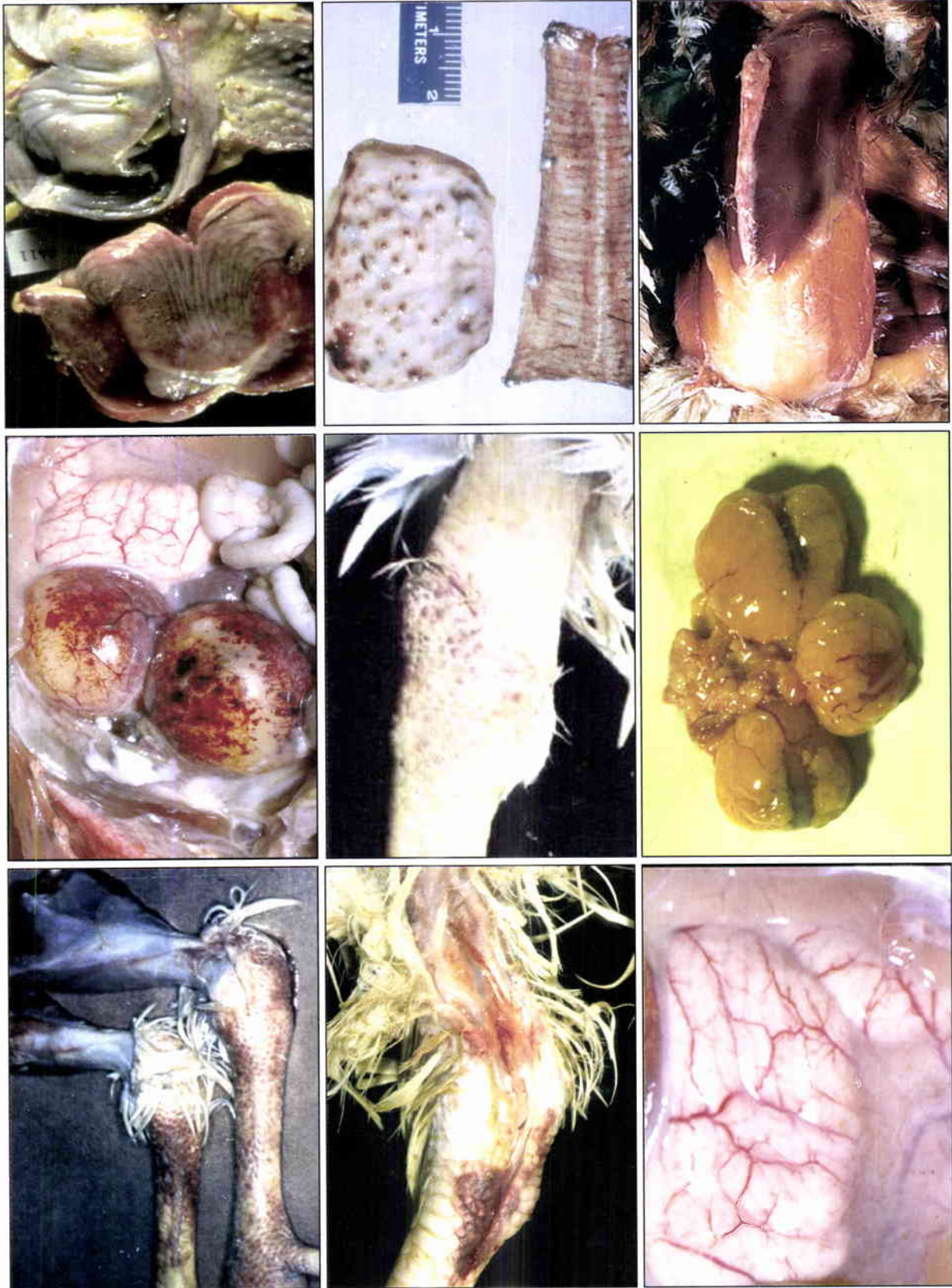


Lesions (AI)

- LPAI- respiratory and in laying bird reproductive also involved (ovarian atresia)
- HPAI- cyanosis of the head, ulceration of comb, red skin (all due to vascular damage), similar GI lesions to VVND, also severe respiratory lesions







Current situation of AI in Jordan

- 71% overall sero-prevalence of AI among broiler-breeder flocks in Jordan. Al-Natour, M. Q. Abo-Shehada, M. N. Prev. Vet. Med. 70:45-50 (2005)
- To date all AIV isolates were (H9N2) LPAI
- Problem: virus can mutate and we are at high risk of a global pandemic
 - Two mutations of current virus could make it highly pathogenic
 - Many more mutations needed to infect people

Criteria for HPAI

- AIV lethal for 6,7, or 8 / 8 four-to-six-week-old susceptible chickens within 10 days following IV inoculation with 0.2 ml of 1:10 dilution of a bacteria free, infectious allantoic fluid
- H5 or H7 has amino acid sequence at the hemagglutinin cleavage site compatible with HPAIV
- Non-H5 or H7 that kills 1-5 chickens and grows in cell culture w/o added trypsin





High Risk Areas in Jordan

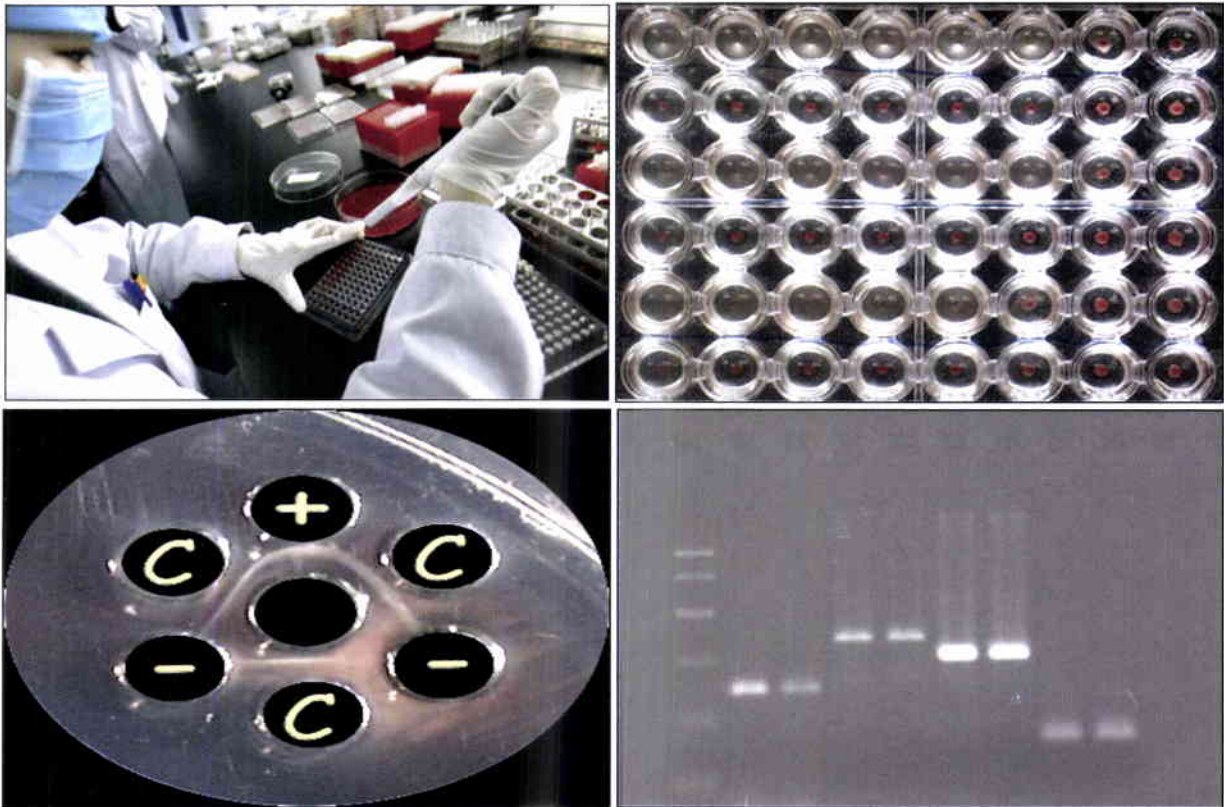


Diagnosis (AI)

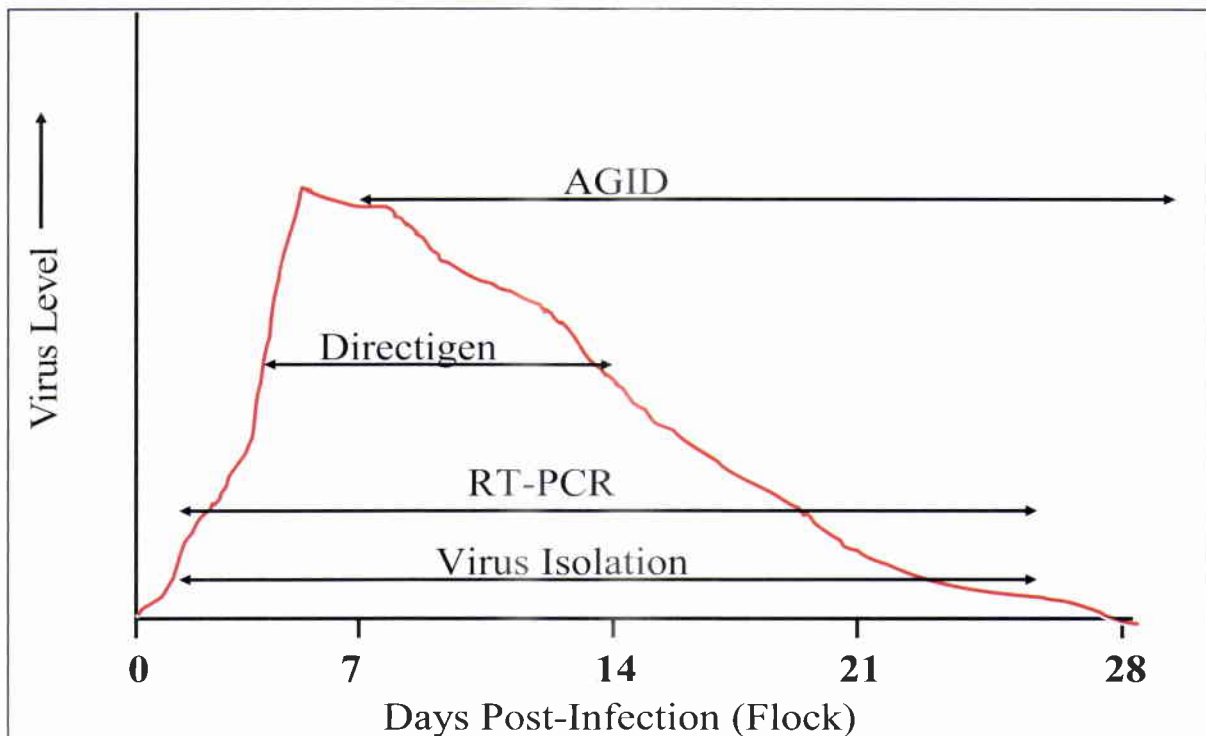
- History, signs and lesions can help, but lab tests needed, serology is available
Reportable
- Isolation to determine the pathotype
- Serology AGPT, ELISA, HI, NI
- Differentiate with other respiratory infections (LPAI)

Avian Diseases Research Lab (JUST)





Avian Influenza Tests



Team Work and Cooperation

- Poultry industry (lead role)
- Diagnostic Labs (JUST & MOA Lab)
- Cooperative Extension
- Allied industries
- Jordan State police

Major Activities

- Quarantine
- Depopulation
- In-house composting
- Increased biosecurity
- Surveillance
- Rapid diagnosis (RRT-PCR)

Quarantine



Depopulation



Increased Biosecurity



In-house composting



Surveillance



Rapid Diagnosis (R-RT-PCR)



The Role of Cooperative Extension (ALERT) in an Emergency Disease Outbreak

- **Educate, don't regulate**
 - Provide accurate and timely information
 - » Fact sheets (paper and online)
 - » Phone calls
 - » Emails
 - » Media inquiries (Newspapers, TV, Radio)
- **Cooperate, don't dictate**
 - Be a team player

Final Thoughts

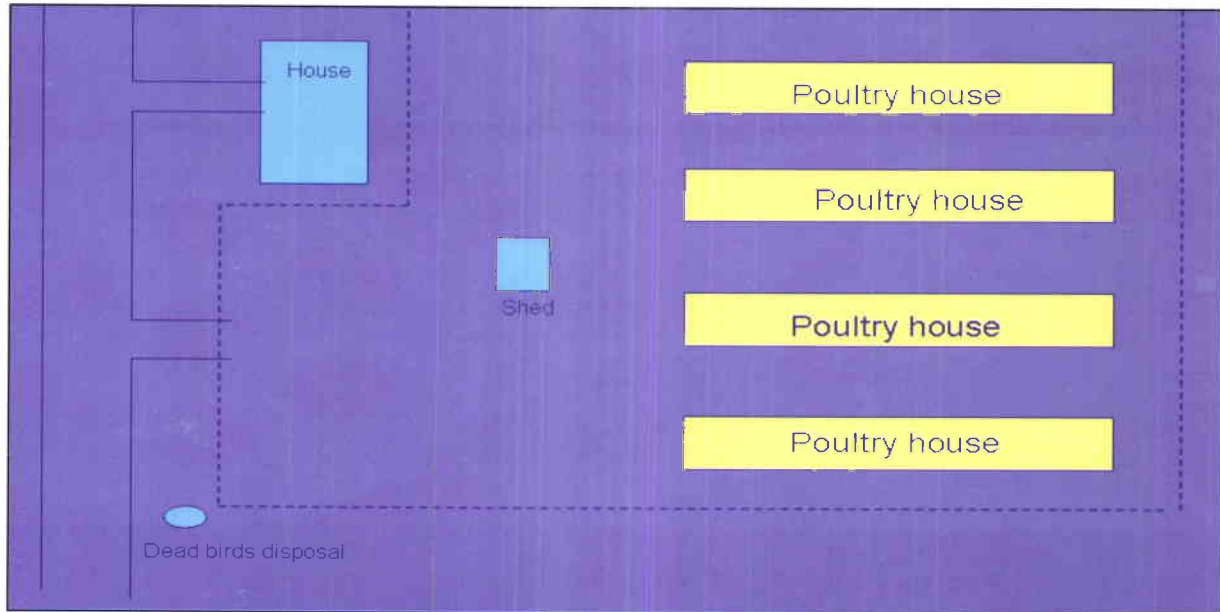
- AI virus:
 - does not care about politics
 - does not recognize state lines
 - will spread if given the slightest opportunity
- The best weapon against AI or any emergency disease is **BIOSECURITY!**



General tips to help prevent spread of avian influenza

- Avoid going near poultry houses on farms
- Visit only one poultry farm per day
- Stay away from backyard poultry, live bird markets and waterfowl

Stay away from poultry houses during farm visits



Drastic measures in some Asian countries



Quarantine Sign:
Contact grower or poultry company before entering



**Wear boot covers, throw them away just
prior to getting back in your vehicle**



Wash wheels and undercarriage of vehicles

Wash before and after visiting farm

Washing is more important than disinfection



Wash vehicle at the end of the day



- Stay out of farms under quarantine
 - Contact grower or company before entering
- In quarantine areas
 - Wear boot covers
 - If wash station is available, wash vehicle before and after visiting a farm
 - Wash vehicle at the end of the day

Avian influenza

- “Highly pathogenic avian influenza”
 - H5, H7
- Pennsylvania - 1983 - \$65,000,000
- Mexico - 1993-4 - \$\$?
- Asymptomatic to fatal (sudden death)
 - Highly Pathogenic Avian Influenza

CFIA information on avian influenza outbreak in BC,2004

Asian outbreak of H5N1 2003-2004

- Republic of Korea (December 12, 2003)
- VietNam (January 4, 2004)
- Japan (January 12)
- Hong Kong (January 19 - peregrine falcon)
- Thailand (January 23)
- Cambodia (January 24)
- China (January 27)
- Laos (January 27)
- Indonesia (February 2)
- Taiwan and Pakistan - flu non-H5N1

Avian to human transfer

- Hong Kong 1997, H5N1- 18 cases, 6 fatal
- Hong Kong, 1999, H9N2 - 2 cases
- Hong Kong Feb 2003, H5N1 - 2 cases, 1 fatal
- Hong Kong Dec 2003, H9N2 - 1 case
- Netherlands Feb 2003, H7N7 - 83 cases, 1 fatal (vet)
- Asia - 2003-2004, H5N1

Human cases of H5N1 (February 18, 2004)

- Thailand - 9 cases, 7 fatal
- Viet Nam - 22 cases, 15 fatal

Process for human influenza vaccines

■ February meeting

- Commonwealth Serum Labs (Australia)
- CDC (USA)
- Natl. Inst. For Medical Research (UK)
- European Inst. For Biological Standardization (EU)
- Food and Drug Admin. (USA)

Process for human influenza vaccines

■ March-April

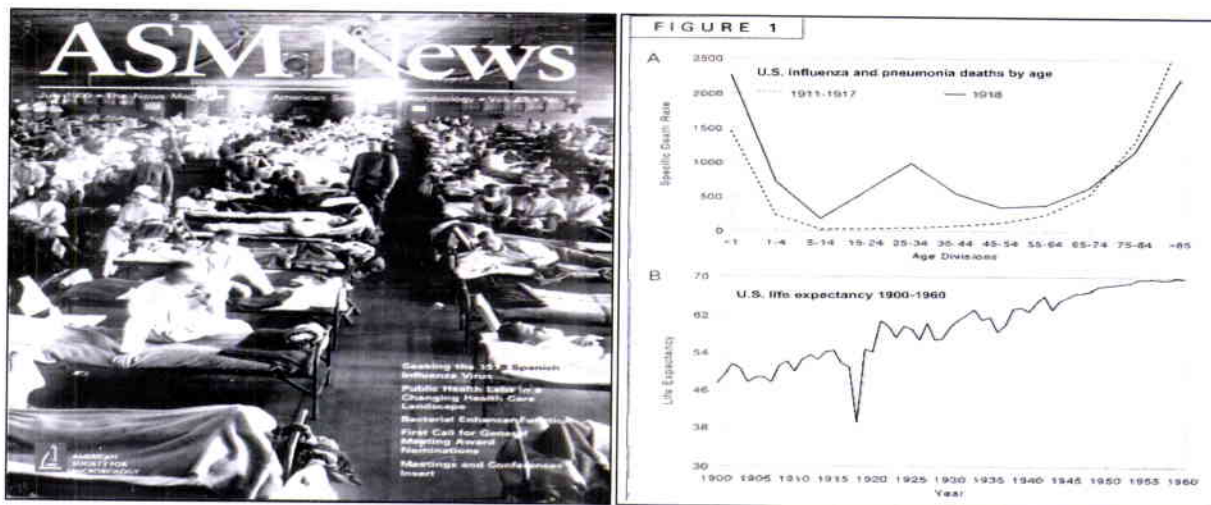
- Genetic and antigenic characterization of approved strains
- Distribution by WHO to manufacturers
- Production of seed stock
- Tests for contaminants (bacteria, mycoplasma, viruses)

Process for human influenza vaccines

■ April-August

- Vaccine production
- License application made
- Clinical trials (to be submitted before vaccination season)

The big pandemic of 1918



human vaccine, 2003-4

VAXIGRIP®

Inactivated Influenza Vaccine Trivalent Types A and B (Split Virion) 2003-2004 Formula - For 6 Months and Older

For Active Immunization Against Influenza

DESCRIPTION

VAXIGRIP®, [Inactivated Influenza Vaccine Trivalent Types A and B (Split Virion)] for intramuscular use, is a sterile suspension prepared from influenza viruses propagated in chicken embryos. The virus-containing fluids are harvested and the virus is inactivated with formaldehyde and purified by zonal centrifugation. The virus is then chemically disrupted using Polyethylene Glycol p-isooctylphenyl Ether (Triton® X-100) producing a "split-antigen". The split-antigen is suspended in sodium phosphate-buffered, isotonic sodium chloride solution. The type and amount of viral antigens contained in VAXIGRIP® conform to the current requirements of the World Health Organization (WHO).^{1,2}

For the 2003-2004 season, the vaccine contains not less than 45 µg hemagglutinin (HA) per dose.

Each dose (0.5 mL) contains the following three strains:

A/New Caledonia/20/99 (H1N1)

15 µg HA

A/Panama/2007/99 (H3N2) (A/Moscow/10/99-like strain)

15 µg HA

B/Shangdong/7/97 (B/Hong Kong/330/2001-like strain)

15 µg HA

thimerosal (in multidose presentation only)

2 µg

sodium phosphate-buffered, isotonic sodium chloride solution

up to 0.5 mL

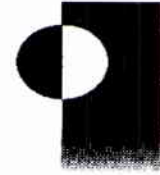
formaldehyde

≤30 µg

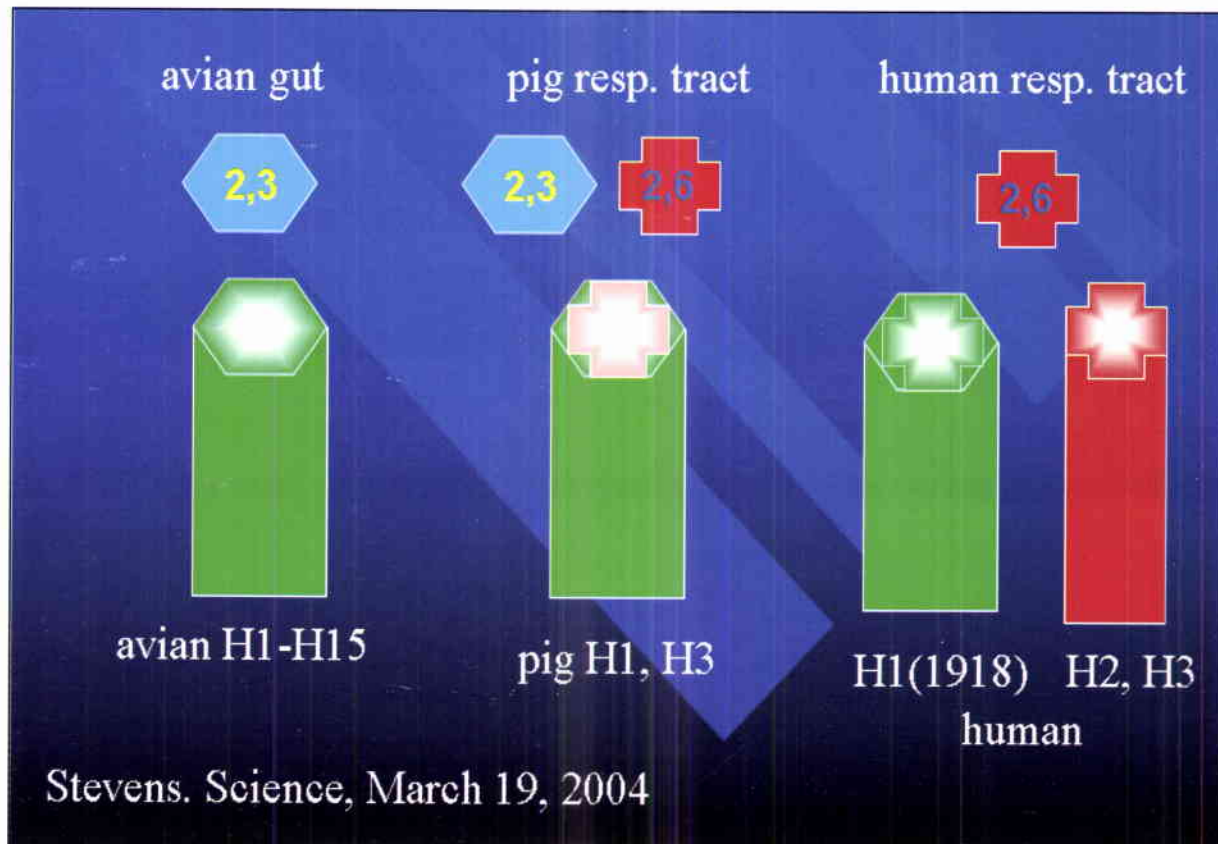
VAXIGRIP® also contains Triton® X-100 and trace amounts of sucrose and neomycin.

After shaking the vial well, VAXIGRIP® is essentially clear and opalescent whitish in colour.

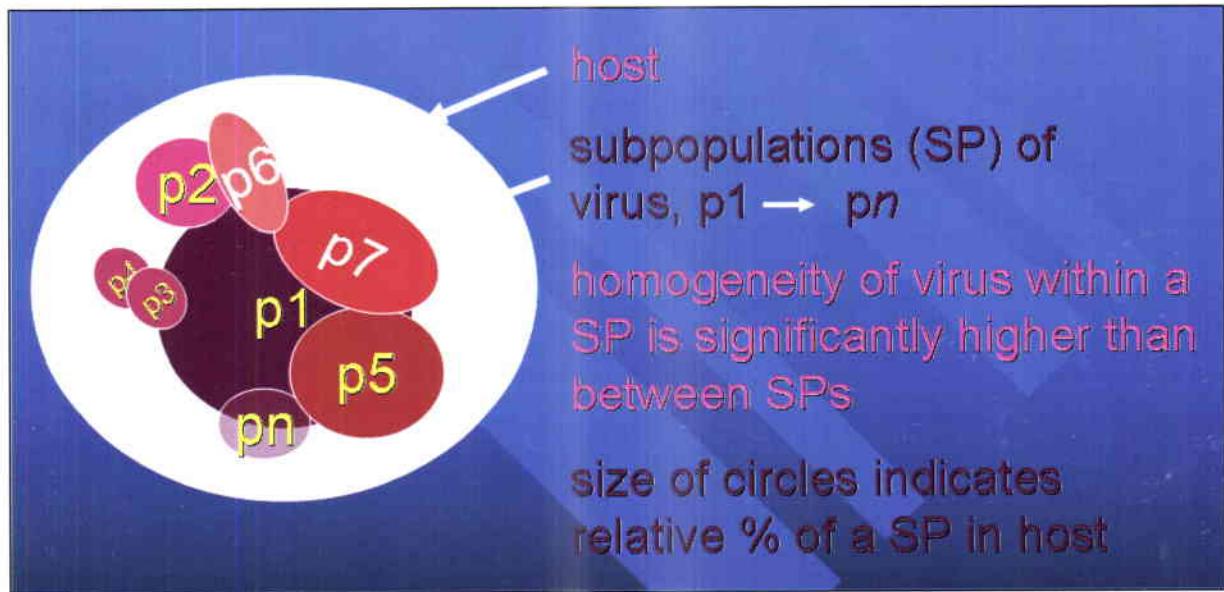
INDICATIONS



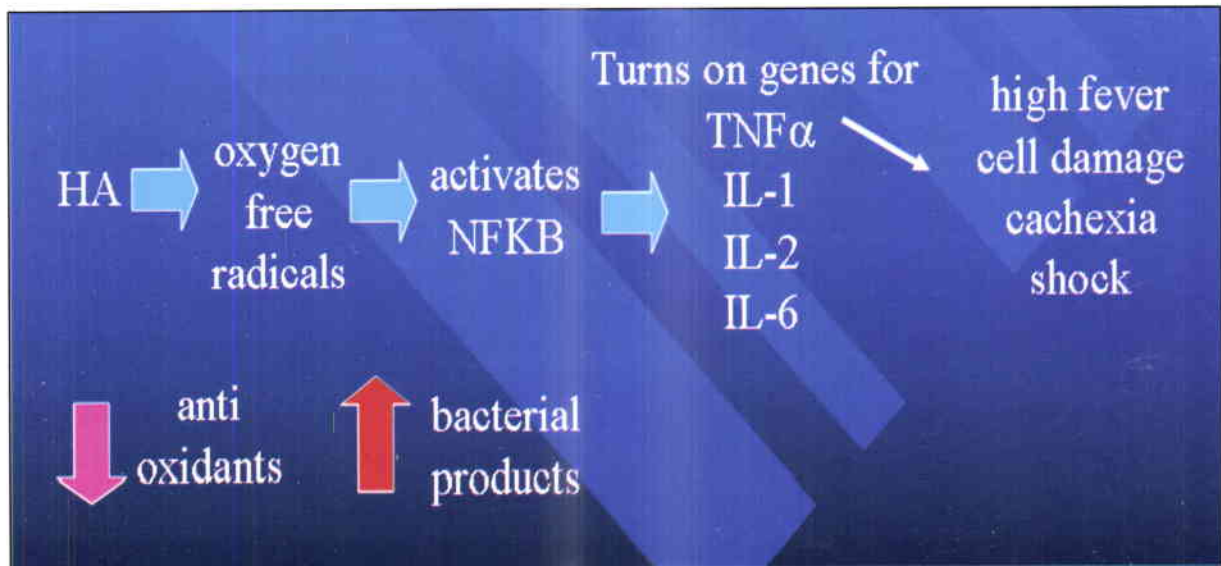
HA and host specificity



Quasispecies



Secondary effects of HA



Chemotherapy

- Prevent membrane fusion
 - Amantidine (Symmetrel)
 - Remantidine (Flumadine)
- Neuraminidase inhibitors
 - Zanamivir (Relenza)
 - Oseltamivir (Tamiflu)



Avian Influenza (AI)

- Orthomyxovirus, type A
- Serologically categorized (H1-H15) and (N1-N9)- (H5 and H7 subtypes Federal and State)
- Some H5 and H7 strains-highly pathogenic
- Virus is very mutagenic-change from low pathogenic to high pathogenic (H5 and H7)
- All ages

Avian Influenza (AI)

- HPAI (historically called fowl plague) and LPAI- importance
- HPAI- Reportable
- Natural reservoir- waterfowl, live bird market and commercial swine facilities
- All ages susceptible- in North America primarily in turkeys (LPAI)

A.I. History

- 1878 fowl plague was described (Italy)
- 1901 fowl plague is caused by a virus
- 1955 it is type A influenza virus
- 1970 AGP test introduced
- 1972 waterfowl is a reservoir
- 1979 virulence and hemagglutinin cleavability was established
- 1997 direct transmission of H5 AIV from bird to humans

Clinical signs (AI)

- Mainly respiratory signs in LPAI, decreased egg production, also egg shell quality
- HPAI, usually in chickens, swelling of head, comb turn blue, hemorrhage on shanks, -very high mortality and morbidity, respiratory, nervous and enteric can be involved (Similar to VVND)

Quasispecies



RT-PCR

- Testing can be performed in one day for multiple agents.
- Sensitivity is very high and comparable to virus isolation.
- Can be applied on samples from any species.
- Decrease the chance of contamination with live virus.

Serologic Testing and Surveillance

- AGPT: Type specific (available at JUST)
- ELISA: Type specific (available at JUST)
- HI: Subtype specific (available at JUST)
- NI: Subtype specific
- Antigen capture ELISA (available at JUST)
- RT-PCR: Surveillance and diagnosis (available at JUST)

Control & Prevention

- Biosecurity
- Stamping out infected flocks
- Vaccination of flocks at high risk :
 - Killed vaccines
 - Viral vector vaccines
 - Live attenuated vaccines are not licensed for poultry

Avian Influenza Infections in Humans

Year	Country	Subtype	Characteristics
1997	Hong Kong*	H5N1	18 people were infected, 6 of whom died
1999	Hong Kong	H9N2	Virus was isolated from 2 children with mild influenza-like symptoms; both recovered
2003	Hong Kong	H5N1	Infection occurred among 2 family members after returning from China, 1 of whom died; source of infection remains uncertain
2003	The Netherlands*	H7N7	Infection occurred in 83 humans (mostly conjunctivitis), 1 of whom died
2003	Hong Kong	H9N2	Child was hospitalized with influenza symptoms and recovered
2003	Several Asian countries*†	H5N1	This is the largest outbreak of avian influenza in poultry ever reported
2004	British Columbia, Canada	H7N7	Infection (mostly conjunctivitis) occurred in 5 humans

*Limited person-to-person transmission occurred

†As of March 8, 2004, outbreaks in poultry have been confirmed in 8 countries: Cambodia, China, Indonesia, Japan, Laos, South Korea, Thailand, and Vietnam. In most of these countries, this is the first outbreak of avian influenza

<http://www.mayoclinicproceedings.com/>

Where are AI viruses found?

Worldwide presence in birds (domestic and wild)

■ 16 countries with H5N1 in birds since 12/03*

Cambodia, China, Croatia, Greece, Indonesia, Japan, Kazakhstan, Laos, Malaysia, Mongolia, Romania, Russia, S. Korea, Thailand, Turkey, Vietnam

■ Other AI viruses (varying lethality) in birds since 1/04:

- H2N2: USA
- H3, H3N2: Canada, USA
- H5N2: China, Italy, Japan, Mexico, Philip., S. Africa, S. Korea, USA
- H6: South Africa
- H7, H7N2, H7N3: Canada, N. Korea, Pakistan, S. Korea, USA
- H9, H9N2: Columbia, Pakistan, Philippines
- H10N7: Egypt
- H13: Finland

*Sources: WHO, OIE, news reports. * Countries with known human H5N1 cases shown in red*

What conditions favour AI spread?

■ Dense animal & human populations in close proximity

(~2 billion people, ~6 billion poultry, ~1 billion swine in E./SE Asia)

- farm animals and pets in/under/next to houses
- live animal markets (many species from many countries)

■ Poor agricultural practices

- inadequate infection control
- poultry excrement used in agriculture (e.g. feed, fertilizer)

■ Other Factors

- food preparation practices, consumption of raw/undercooked meat
- limited coordination between human health and agriculture sectors
- slowness in AI diagnosis and sharing “sensitive” information about AI

Jordan Plan

Avian Influenza National Committees

■ Highest National Committee

- Coordinates efforts
- Generate funds

■ Ministry of Agriculture Committee

- Surveillance of wild birds (JUST and Ministry labs)
- Increase awareness of biosecurity in chicken farms

- Importation ban of poultry products
- Stockpile H5N1 vaccine for poultry
- Ministry of Health Committee
 - Improve diagnostic abilities
 - Stockpile antiviral drugs (Tamiflu®)
 - Work closely with WHO and international agencies



Human Infections

- H5N1 - severe
 - 1997 Hong Kong: 18 cases; 6 deaths
 - 2003 Hong Kong: 2 cases; 1 death
 - 2004 Vietnam and Thailand: 40 cases; 29 deaths (9 Sep 2004)
- H9N2 - mild
 - 1999 Hong Kong: 2 cases (mild)
 - 2003 Hong Kong: 1 case (mild)
- H7N7 - mild
 - 2003 Netherlands: 89 cases; 1 death
 - 2004 Canada: 2 cases

Quick Response

- EPDTF was mobilized as soon as AI was confirmed on a poultry farm near Farmington, Delaware on February 5, 2004
- EPDTF promptly implemented a preset eradication and control plan

Avian H5N1 in Asia

- Continuing presence in Asia since 1996
 - Documented direct avian to human transmission, Hong Kong, 1997
- Enzootic and epizootic of unprecedented size and complexity

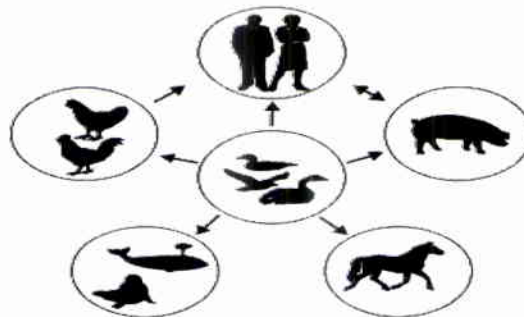
- 9 countries with ongoing outbreaks (most recently in Malaysia)
- Ongoing human cases with high case fatality, mostly in healthy children and young adults
- Ongoing evolution of the virus' antigenic, genetic and functional properties
- No sustained human to human transmission to date

Why are We Concerned?

- Increasing countries/areas with avian influenza
 - Uncertainties on progress of control
- Ongoing human infection with avian H5N1
 - Limited implementation of protective measures
- Co-Circulating human influenza viruses
 - Risk of genetic reassortment leading to pandemic strain
- Majority of human population would have no immunity

Influenza H5N1: expanded host range?

- Domestic poultry
- Wild birds
 - infected
 - reservoir
- Humans
- Swine (China)
- Cats? (Netherlands)



The natural
hosts of the
influenza
A virus

Containing an Initial Outbreak of Novel Influenza – Can this be done?

- Hong Kong accomplished this in 1997
- 2004 H5N1 situation much more challenging
- Large areas affected in a large number of countries
- Slow and incomplete reporting of H5N1 findings
- Poor public health infrastructure
- Complex political and economic situations
- International action required: support for antivirals PPE and compensation may help

Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) H7N3, BC, 2004

- 42 commercial and 11 backyard premises infected
 - Feb 19 – low path Avian influenza (AI) H7 first detected in a commercial chicken breeder farm

- March 8 – HPAI detected on the same farm
- Mar 11 – HPAI on second farm
- Approx 19 million birds depopulated
- Spread likely by movement of people, equipment or birds. Airborne transmission through dust and feathers?

Avian H7N3 in BC, 2004

- Movement restrictions
- Susceptible birds within 3km of infected premises depopulated
- Active surveillance and testing of flocks; birds tested negative slaughtered through normal commercial channels
- Depopulation activities suspended on June 4 after 21 days with no new reports.
- Outbreak declared contained on August 18, 21 days after last infected premise cleaned and disinfected.

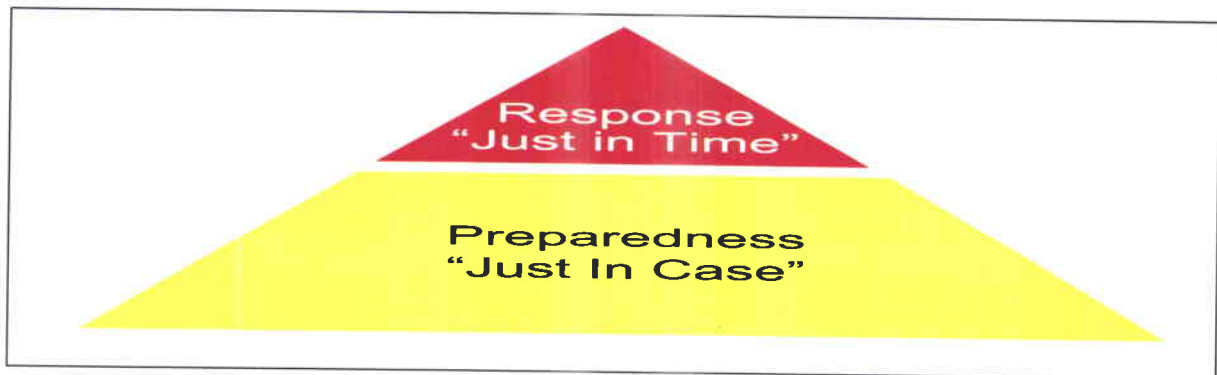
BC Avian H7 Outbreak Human Health Issues

- 2 cases of lab confirmed human H7 infections in cullers
- Surveillance of exposed persons
 - Farm family and workers
 - Persons involved in depopulation of infected poultry
- Immunization with current “seasonal” flu vaccine
- Personal protective equipment
- Antivirals: prophylaxis and treatment
- Pandemic Influenza Committee guidelines on “Human Health Issues related to Domestic Avian Influenza Outbreaks”

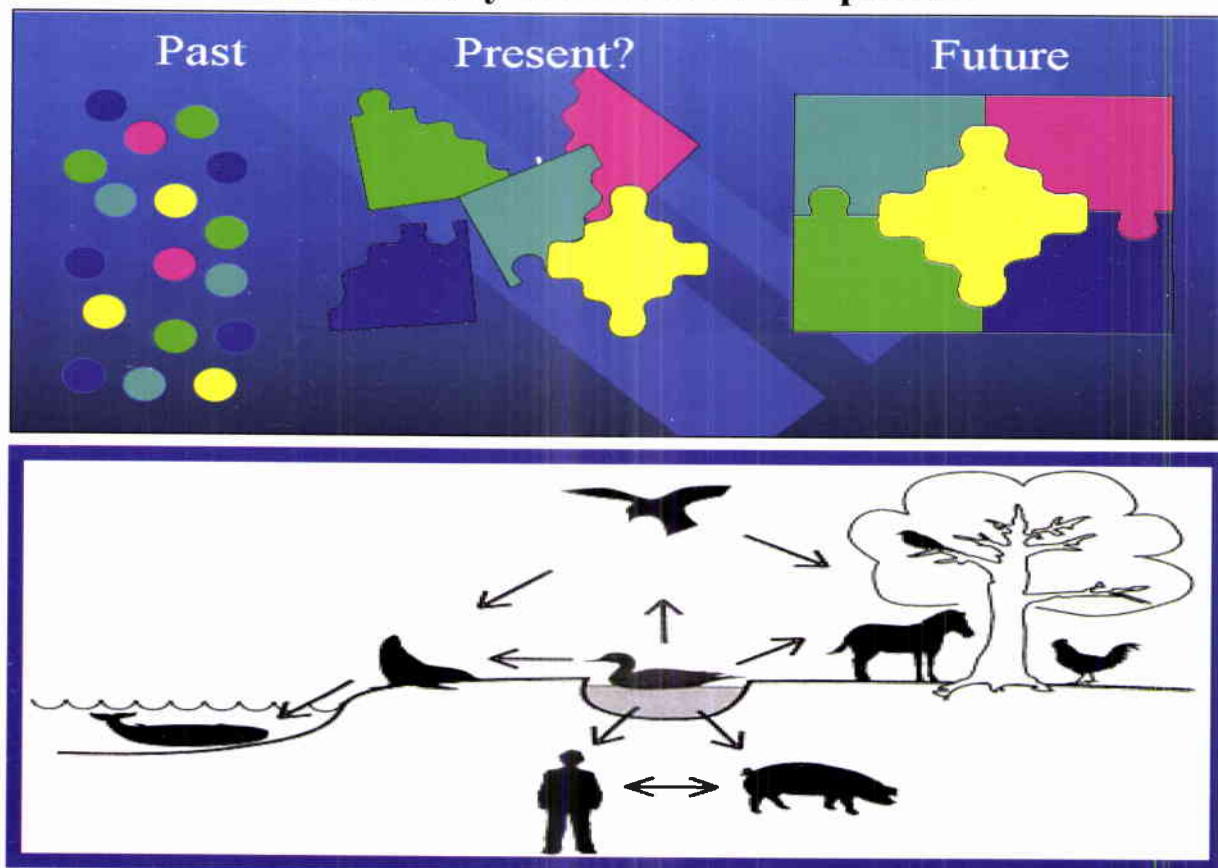
NACI Recommendations

June 15, 2004

A Two-Tiered Plan for Laboratory Communications



Laboratory Network Development



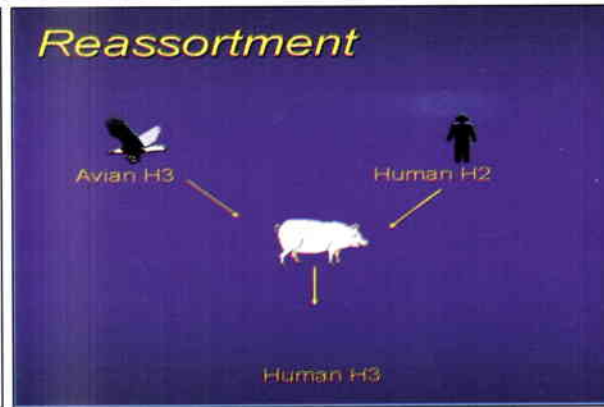
Economic significance of H5N1 AI

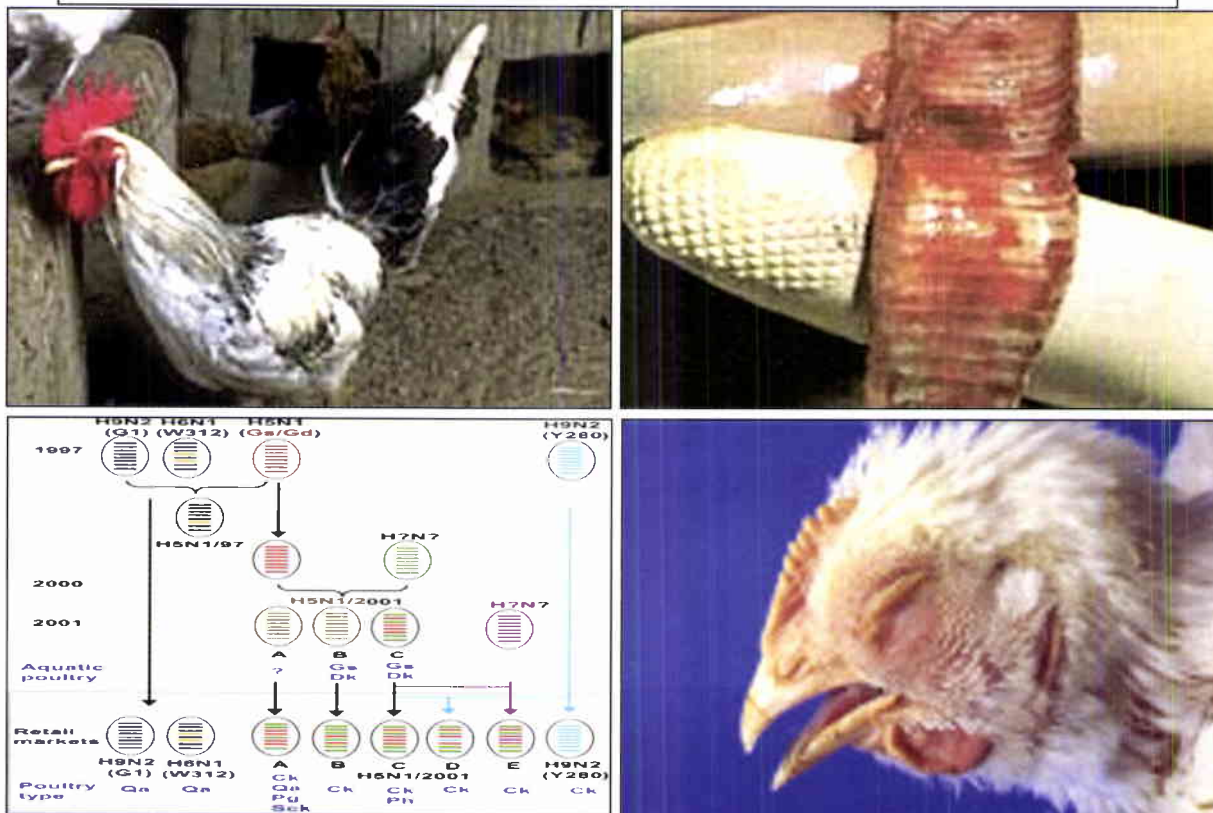
Disease	Country	Year	Impact	Cost (\$US)
'mad cow'	UK	1990-98	Beef export	9 billion
Cholera	Peru	1991	Seafood export	770 million
Plague	India	1995	Tourism, trade	2 billion
H5N1 flu	Hong Kong	1997	Loss of poultry (1.5 million birds)	22 million
Cholera	Tanzania	1998	Seafood export	36 million
Nipah	Malaysia	1999	Loss of swine (0.9 million pigs)	540 million
West Nile	US	1999		400 million
SARS	Worldwide	2003	Tourism, trade	80 billion
H5N1 flu	SE Asia	2003-05	Loss of poultry (~140 million birds so far)	~10 billion? (and growing)

Sources: WHO, Institute of Medicine, FAO, OIE, Asian Development Bank, World Bank



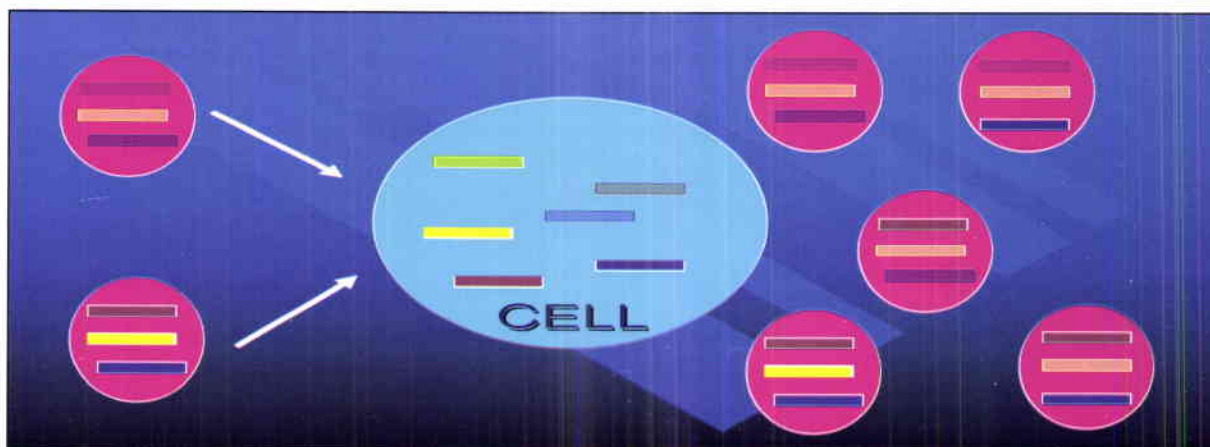
	Rare or unknown	Occasional	Common	Frequent
Avian H3				
Human H2				
Human H3				
Human H4				
Human H5				
Human H6				
Human H7				
Human H8				
Human H9				
Human H10				
Human H11				
Human H12				
Human H13				
Human H14				
Human H15				
Human H16				
Human H17				
Human H18				
Human H19				
Human H20				
Human H21				
Human H22				
Human H23				
Human H24				
Human H25				
Human H26				
Human H27				
Human H28				
Human H29				
Human H30				
Human H31				
Human H32				
Human H33				
Human H34				
Human H35				
Human H36				
Human H37				
Human H38				
Human H39				
Human H40				
Human H41				
Human H42				
Human H43				
Human H44				
Human H45				
Human H46				
Human H47				
Human H48				
Human H49				
Human H50				
Human H51				
Human H52				
Human H53				
Human H54				
Human H55				
Human H56				
Human H57				
Human H58				
Human H59				
Human H60				
Human H61				
Human H62				
Human H63				
Human H64				
Human H65				
Human H66				
Human H67				
Human H68				
Human H69				
Human H70				
Human H71				
Human H72				
Human H73				
Human H74				
Human H75				
Human H76				
Human H77				
Human H78				
Human H79				
Human H80				
Human H81				
Human H82				
Human H83				
Human H84				
Human H85				
Human H86				
Human H87				
Human H88				
Human H89				
Human H90				
Human H91				
Human H92				
Human H93				
Human H94				
Human H95				
Human H96				
Human H97				
Human H98				
Human H99				
Human H100				





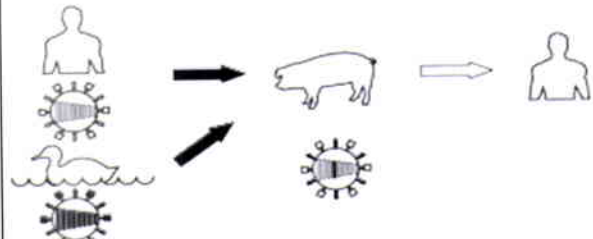
Distribution of HA and NA serotypes in nature

HA/NA serotype	Birds	Horses	Pigs	Humans
HA	1-15	3 and 7	1 and 3	1, 2, 3, 5, 7 and 8-14
NA	1-9	7 and 8	1, 2 and 7	1, 2 and 7

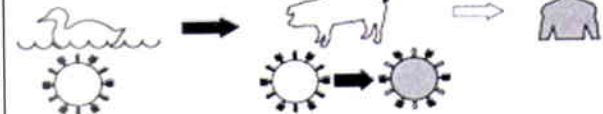




A. Reassortment in Pigs



B. Adaptation in Pigs



C. Reassortment in Humans

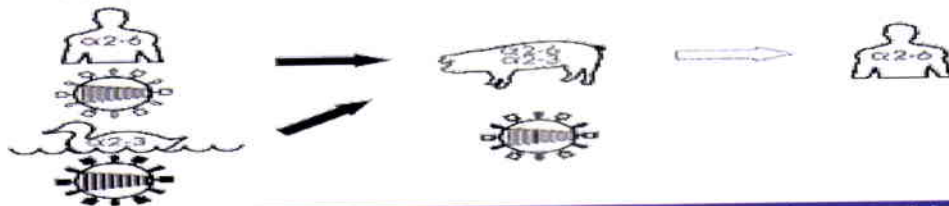


D. Adaptation in Humans



Models for the Generation of Pandemic Influenza Viruses

Reassortment in Pigs



In the classical genetic reassortment model, avian and human viruses bind their respective receptors in the pig tracheal epithelium.

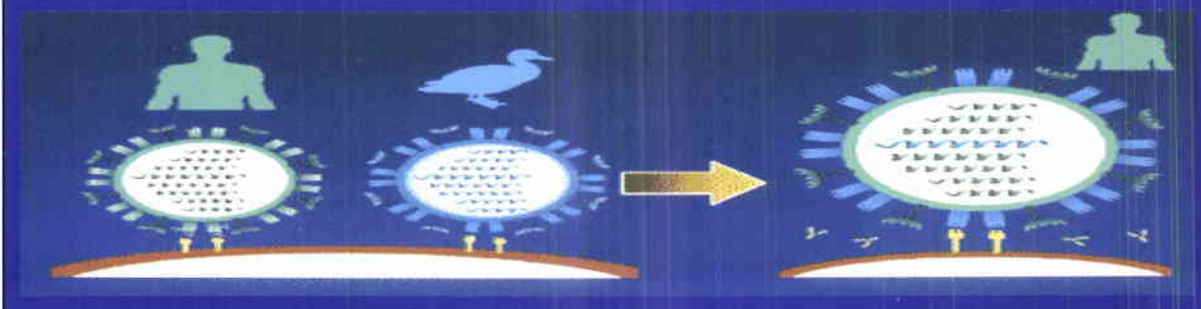
Horimoto T, Kawaoka Y. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:129-149.

Hemagglutinin Subtypes of Influenza A Virus

Subtype	Human	Swine	Horse	Bird
H1	▲	▲		▲
H2	▲	▲		▲
H3	▲	▲		▲
H4				▲
H5				▲
H6				▲
H7				▲
H8				▲
H9				▲
H10				▲
H11				▲
H12				▲
H13				▲
H14				▲
H15				▲

Adapted with permission from Levine AJ. *Viruses.* 1992;165.

Antigenic Shift



Number of Deaths From Influenza and Pneumonia, 1918-1919

Age	Number (%)
<5	140,406 (21.1)
5-19	76,675 (11.5)
20-39	280,904 (42.2)
40-64	108,232 (16.2)
>65	60,133 (9.0)
TOTAL	666,350

Number of Deaths From Influenza and Pneumonia, 1918-1919

Age	Number (%)
<5	140,406 (21.1)
5-19	76,675 (11.5)
20-39	280,904 (42.2)
40-64	108,232 (16.2)
>65	60,133 (9.0)
TOTAL	666,350

Antigenic Variants of Influenza A(H3N2)

Year	Variant
1968-72	A/Hong Kong/68
1972-73	A/England/72
1974-75	A/Port Chalmers/73
1975-76	A/Victoria/75
1977-78	A/Texas/77
1980-83	A/Bangkok/79
1984-85	A/Philippines/73
1985-86	A/Stockholm/85
1987-88	A/Sichuan/87
1989-90	A/Shanghai/87
1991-92	A/Beijing/89
1993-94	A/Beijing/92
1994-95	A/Shangdong/93
1995-96	A/Johannesburg/94
1996-97	A/Wuhan/95

Antigenic Drift



Models for the Generation of Pandemic Influenza Viruses (cont)

Reassortment in Humans



An avian virus may infect a human and reassort with a human virus.

Horimoto T, Kawaoka Y. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:129-149.

Models for the Generation of Pandemic Influenza Viruses (cont)

Adaptation in Humans



An avian virus may infect a human and acquire the ability to recognize the receptor on human epithelial cells, leading to efficient replication in humans and the ability to spread from human to human.

Horimoto T, Kawaoka Y. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:129-149.

Models for the Generation of Pandemic Influenza Viruses (cont)

Adaptation in Pigs



In the adaptation model, avian viruses acquire the ability to replicate efficiently in humans by adapting to the human receptor in pigs. The change is mediated by a mutation in the hemagglutinin gene.

Horimoto T, Kawaoka Y. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:129-149.

Number of Deaths From Influenza and Pneumonia, 1918-1919

Age	Number (%)
<5	140,406 (21.1)
5-19	76,675 (11.5)
20-39	280,904 (42.2)
40-64	108,232 (16.2)
>65	60,133 (9.0)
TOTAL	666,350

Age-Specific Rates of Medically Attended Acute Respiratory Illnesses During the Influenza Epidemic and The Summer Nadir, Scott & White Clinic, 1997-1998

Age	Number (Rate/100)			
	Temple-Belton		Bryan-Waco	
	Epidemic	Nadir	Epidemic	Nadir
<5	1,852 (55.7)	1,016 (30.5)	2,362 (57.4)	1,301 (31.6)
5-11	1,226 (23.2)	450 (8.5)	1,371 (22.9)	485 (8.1)
12-17	526 (11.1)	187 (4.0)	717 (13.4)	179 (3.3)
18-24	290 (8.1)	163 (4.5)	552 (9.5)	206 (3.5)
25-34	581 (9.0)	265 (4.1)	870 (9.4)	359 (3.9)
35-44	618 (8.3)	259 (3.5)	768 (8.8)	340 (3.9)
45-54	556 (8.7)	239 (3.7)	572 (8.6)	250 (3.8)
55-64	341 (8.6)	172 (4.3)	307 (8.7)	145 (4.1)
>65	826 (9.4)	486 (5.5)	394 (9.9)	224 (5.5)
Total	6,816 (13.6)	3,237 (6.5)	7,913 (14.8)	3,489 (6.5)

Rates of Hospitalization by Age Influenza Epidemic Period, 1998-1999

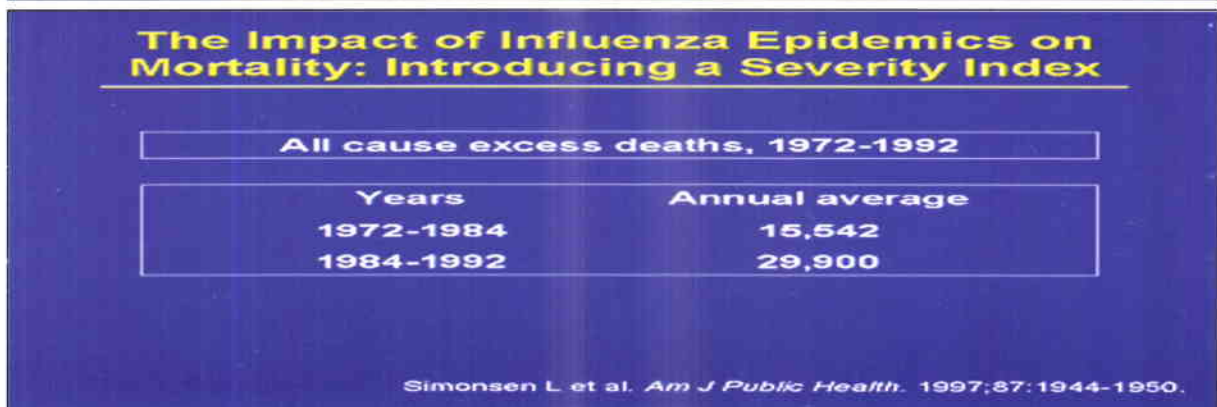
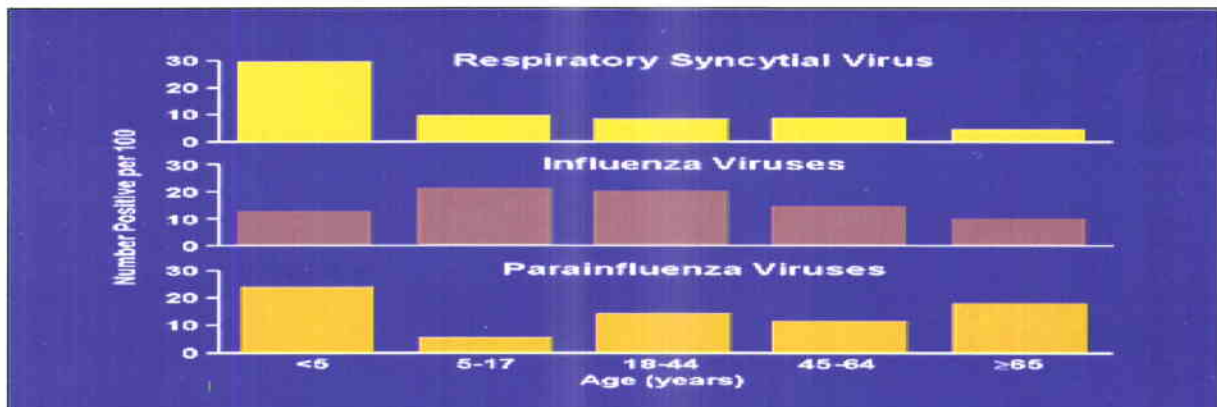
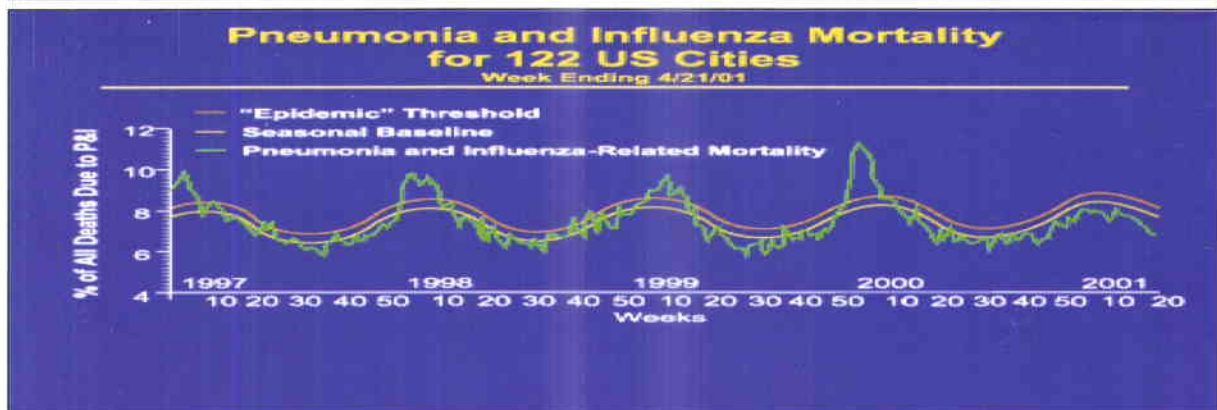
Acute respiratory disease

Age Group	Number of Admissions		Rate/10,000
	TCH	Harris County*	
≤6 months	222	483	163.0
0-1 year	482	1,048	176.8
1-4 years	625	1,359	59.0
5-9 years	255	554	20.4
10-14 years	116	252	10.7
≥15 years	58	126	5.2
TOTAL	1,758	3,822	36.8

*Estimated number if TCH=46% of beds in Harris County
Overall rate for children <5 years of age: 83.1/10,000

Other Complications of Influenza

- Acute myositis
- Neurologic
 - Reye's syndrome
 - Encephalopathy
 - Febrile convulsions
- Cardiac
 - Pericarditis
 - Myocarditis

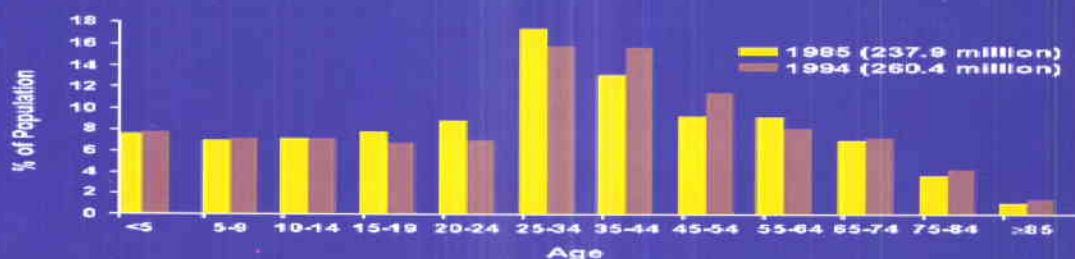


Pneumonia Hospitalizations and Deaths, All Elderly, United States, 1985 and 1995

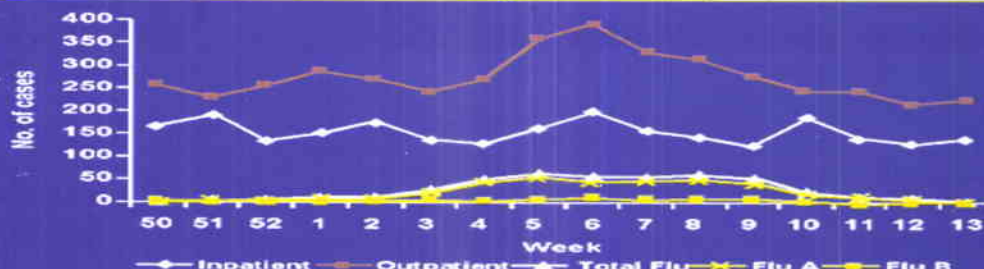


Han LL, Alexander JP, Anderson LJ. *J Infect Dis.* 1999;179:25-30.

US Population and Distribution 1985 and 1994



TCH Outpatient and Inpatient ARD Visits During Influenza Epidemic, 1998-1999



Leading Causes of Disability-Adjusted Life-Years (DALYs) for the World, 1999

Rank	Cause	DALYs (x000)	Deaths (x000)
1	Lower respiratory tract infections	96,682	3963
2	Human immunodeficiency virus	89,819	2673
3	Perinatal conditions	89,508	2356
4	Diarrheal diseases	72,063	2213
5	Depression, major unipolar	59,030	1
6	Ischemic heart disease	58,981	7089
7	Vaccine-preventable diseases	54,638	1554
8	Cerebrovascular diseases	49,856	5544
9	Malaria	44,998	1086
10	Nutritional deficiencies	44,539	493

Adapted from Michaud CM et al. *JAMA.* 2001;285:535-539.

Antiviral Drug Comparison: Prophylaxis or Treatment of Influenza

Antiviral Drug/Year	Trade Name	Influenza Type	Approved Ages	Cost (\$)/5 days
Amantadine/ 1966	Symmetrel®	A	≥1y for Px ≥1y for Tx	~10 1-2
Rimantadine/ 1993	Flumadine®	A	≥1y for Px ≥12 for Tx	15-20
Zanamivir/ 1999	Relenza®	A & B	≥7y for Tx	40-45
Oseltamivir/ 1999	Tamiflu™	A & B	≥13y for Px ≥1y for Tx	50-55

Influenza Virus: Hemagglutinin and Neuraminidase

Hemagglutinin

- Agglutinates RBCs in tissue culture
- Involved in virus attachment/penetration and membrane fusion
- 15 types
- Neutralizing Ab against HA is important for immunity

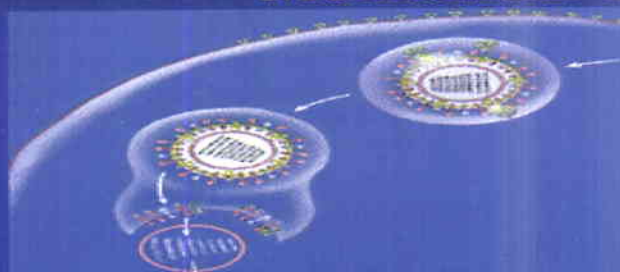
Neuraminidase

- Allows for penetration through NP mucous layer to epithelial cells
- 9 types
- Facilitates release of virions by cleaving sialic acid residues thus preventing aggregation

Antiviral Drug Comparison: Prophylaxis or Treatment of Influenza

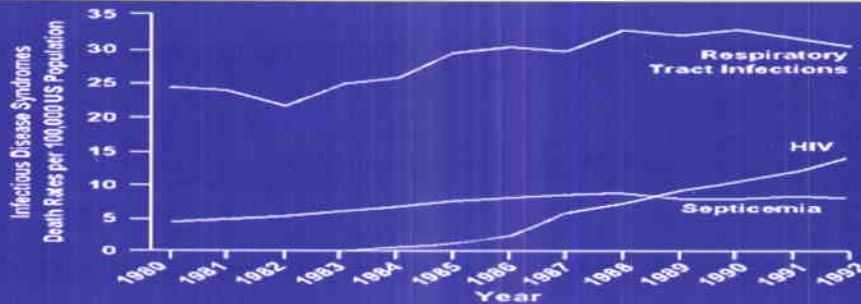
Antiviral Drug/Year	Trade Name	Influenza Type	Approved Ages	Cost (\$)/5 days
Amantadine/ 1966	Symmetrel®	A	≥1y for Px ≥1y for Tx	~10 1-2
Rimantadine/ 1993	Flumadine®	A	≥1y for Px ≥12 for Tx	15-20
Zanamivir/ 1999	Relenza®	A & B	≥7y for Tx	40-45
Oseltamivir/ 1999	Tamiflu™	A & B	≥13y for Px ≥1y for Tx	50-55

Amantadine and Rimantadine: Mechanism of Action



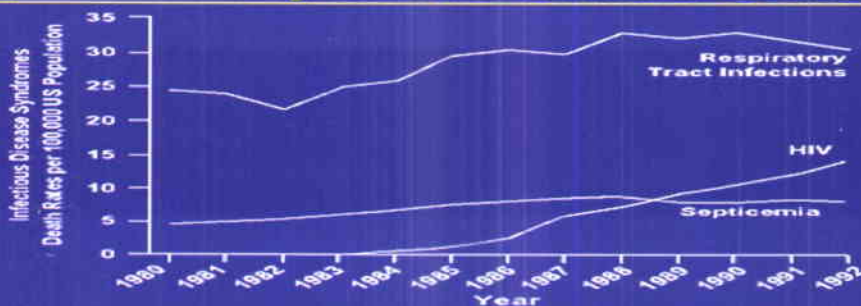
- Blocks M2 protein channel (type A only)
- Disrupts hydrogen transport, viral uncoating in host cell and therefore viral RNA transcription

Trends in Infectious Diseases Mortality in the United States



Pinner RW et al. JAMA. 1996;275:189-193.

Trends in Infectious Diseases Mortality in the United States

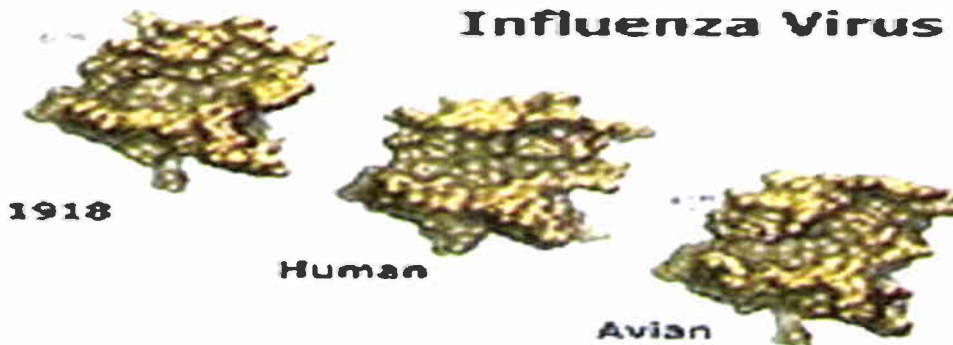


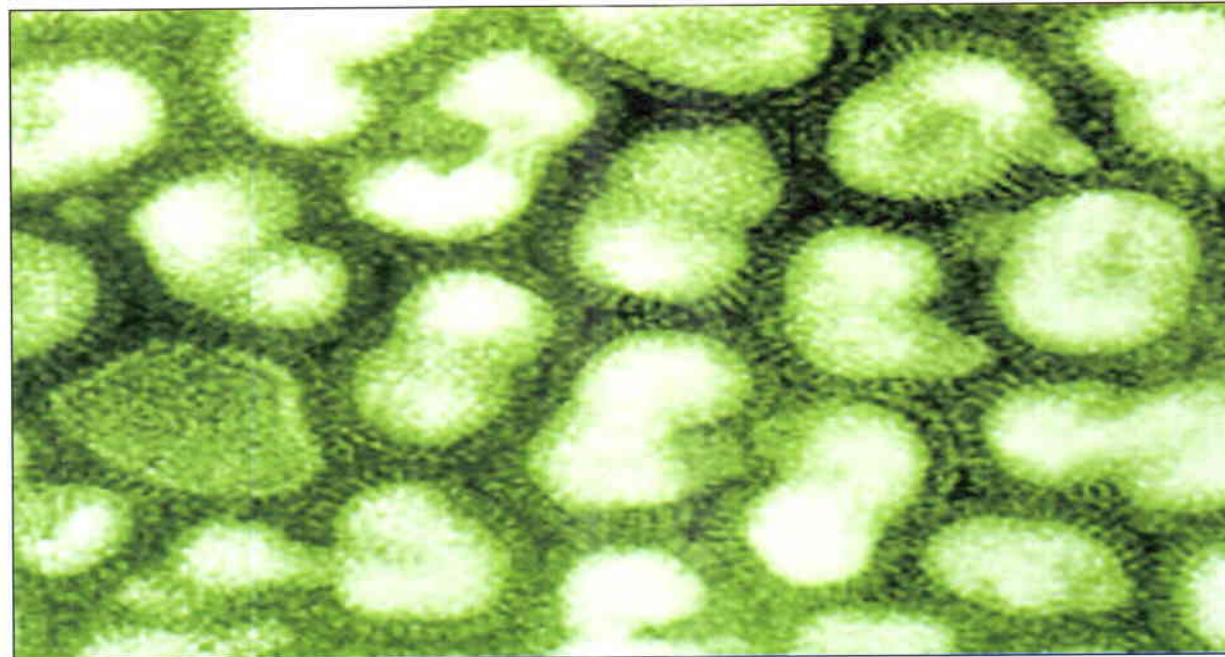
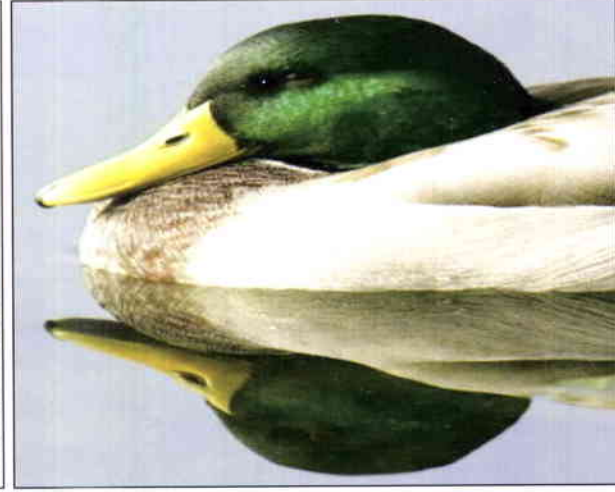
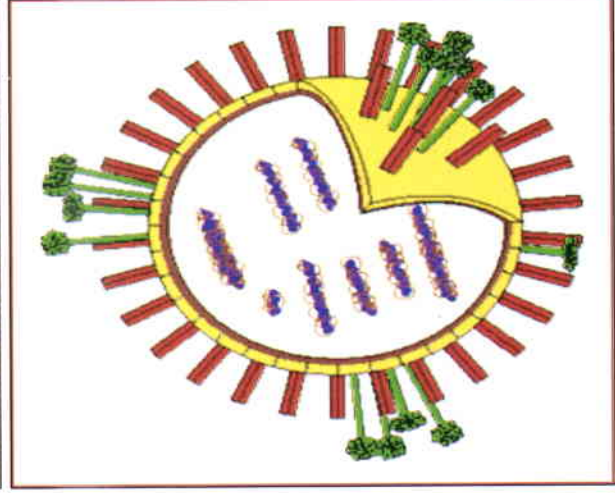
Pinner RW et al. JAMA. 1996;275:189-193.

Antigenic Variants of Influenza A(H3N2)

Year	Variant
1968-72	A/Hong Kong/68
1972-73	A/England/72
1974-75	A/Port Chalmers/73
1975-76	A/Victoria/75
1977-78	A/Texas/77
1980-83	A/Bangkok/79
1984-85	A/Philippines/73
1985-86	A/Stockholm/85
1987-88	A/Sichuan/87
1989-90	A/Shanghai/87
1991-92	A/Beijing/89
1993-94	A/Beijing/92
1994-95	A/Shangdong/93
1995-96	A/Johannesburg/94
1996-97	A/Wuhan/95

Influenza Virus





Avian Influenza Vaccines

Saad Gharaibeh
BVM, PhD, Dip ACPV
Dept. of Pathology and Animal Health
Faculty of Veterinary Medicine
Jordan University of Science and Technology

Avian Influenza Vaccines

Saad Gharaibeh BVM, PhD, Dip ACPV

Dept. of Pathology and Animal Health

Faculty of Veterinary Medicine

Jordan University of Science and Technology

Introduction

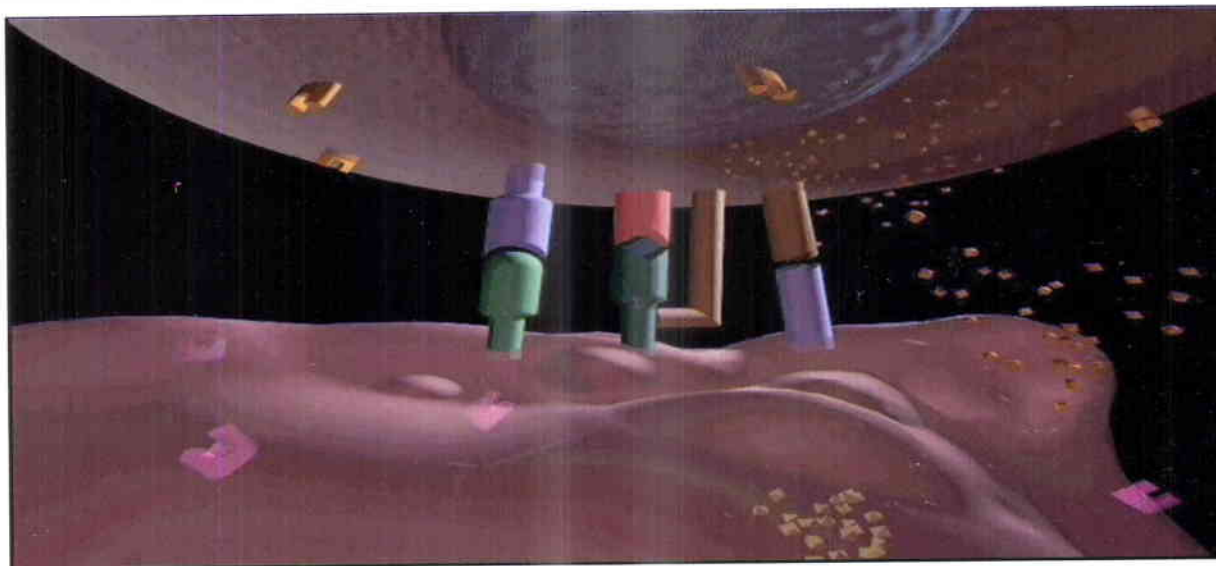
The Immune System

- The cells which mediate immune reactions are the white blood cells or leukocytes.
- Broadly speaking there are two main categories of leukocyte, the lymphocytes and the phagocytes.
- There are two groups of lymphocytes:
 - B-cells, they use cell surface antibody as their antigen-receptor
 - T-cells, they use a related but distinct molecule, the T-cell receptor or TCR.
- Each T-cell or B-cell recognizes just one antigen, but the population as a whole can recognise any antigen that a pathogen may produce.

MHC and T-cells

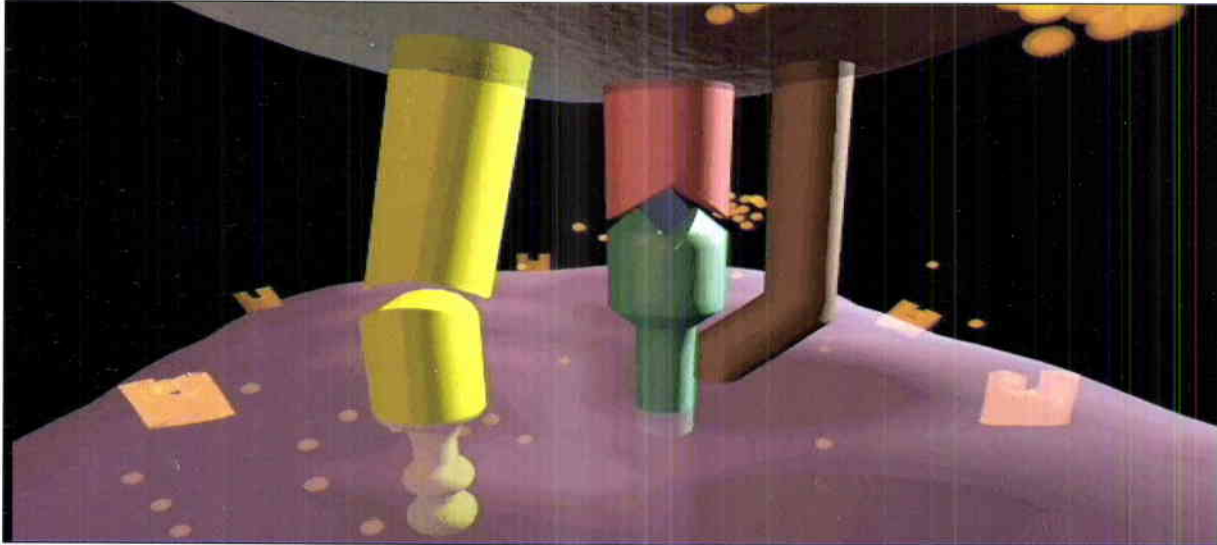
- All cells of the body express class I Major Histo-Compatibility protein (MHC I).
- B-cells, dendritic cells, and the macrophages express MHC II .
- CD8 cytotoxic T-cells recognize antigens expressed on MHC I
- CD4 helper T-cells recognize antigens expressed on MHC II

MHC I & CD8 cells



- Endogenously synthesized proteins (viral proteins) are expressed on cell surface in combination with MHC I to be presented to CD8 cytotoxic cells.
- CD8 recognizing the antigen will proliferate and kill the virally infected cells by release of granzymes and perforins.

MHC II & CD4 cells



- Internalised (phagocytized) proteins are expressed on cell surface in combination with MHC II to be presented to CD4 helper cells.
- CD4 cells recognizing the antigen will proliferate and activate B-cells that also recognize the antigen to proliferate and produce antibodies against that antigen.

Vaccines

Harmless agents, usually but not necessarily proteins, that elicit an immune response, thereby providing protective immunity against a potential pathogen.

Types of Vaccines

- Killed (inactivated) Bacteria or Viruses
- Attenuated Strains of Bacteria or Viruses
- Subunit Vaccines
- Recombinant Vaccines
- DNA Vaccines or "genetic immunization"
- Antisense Therapeutic Agents

Killed (Inactivated) Vaccines

- The agent in the vaccine should be easily grown in large amounts.
- The inactivation process must retain the antigenicity of the important proteins.

Killed (Inactivated)

advantages

- They give sufficient humoral immunity if patients are boosted.
- There is no mutation or reversion (This is a big advantage)
- They can be used with immuno-deficient patients

disadvantages

- Usually are given only by injection.
- Some vaccinees do not raise immunity.
- Boosters tend to be needed.
- There is little mucosal / local immunity (IgA)
- Higher cost
- Occasional failures in inactivation leading to injection with virulent virus.

Live Attenuated Vaccines

- Attenuation is usually achieved by passage of the virus in a foreign host such as embryonated eggs or tissue culture cells.
- The attenuation retains the immunogenicity of the virus but decreases or eliminates pathogenicity.

Advantages

- May be used in mass vaccinating a population. Especially if by spray or drinking water.
- They activate all phases of immune system. They elicit CMI and humoral IgG and local IgA.
- They raise immune response to all protective antigens.
- They offer more durable immunity and are more cross reactive. Thus they stimulate antibodies against multiple epitopes which are similar to those elicited by the wild pathogen.
- They cost less to produce
- They give quick immunity in majority of vaccinees
- These vaccines are easily transported in the field
- They can lead to elimination of wild type virus from the community

Disadvantages

- Mutation. This may lead to reversion to virulence (this is a major disadvantage)
- Spread to contacts of vaccinee who have not consent to be vaccinated (This could also be an advantage in certain communities such as animals)
- Live viruses are a problem in immunodeficiency diseased patients

Subunit Vaccine

Production

- Synthetic Peptide
- Purified protein from the whole virus
- Clone the gene responsible for the neutralizing epitopes and express the protein (antigen) in an expression system (e.g. baculovirus)
- So we inject a killed vaccine that only contains the important epitopes of the agent.
- It has the advantages of the killed vaccine.
- Occasionally, it has problems with antigenicity because the protein is very small and if expressed in a different cell type. This is because the epitope may depend on the conformation of the virus as a whole or its glycosylation.

Recombinant Vaccines

Types

- Deletion of the pathogenicity gene of the virus of bacteria and retaining its immunogenicity.
- Production of the antigenic protein in an expression system. (subunit vaccine)
- Cloning of the gene into another virus. The host virus is usually a pox or herpes virus.

DNA Vaccine

- These vaccines are based on the deliberate introduction of DNA plasmid into the vaccinee. The plasmid carries a protein coding gene that transfects cells in vivo at very low efficient rate and expresses an antigen that causes an immune response.
- it is not the purpose to raise antibodies against the DNA molecules themselves but to get the protein expressed by cells of the vaccinee.
- Usually, muscle cells do this since the plasmid is given intramuscularly. It should be noted that the plasmid does not replicate in the cells of the vaccinee, only protein is produced.
- The plasmid DNA is taken up by muscle cells after injection has also be shown that DNA can be introduced into tissues bombarding the skin with DNA-coated gold particles.

DNA Vaccines

Advantages

- Plasmids are easily manufactured in large amounts
- DNA is very stable

- DNA resists temperature extremes and so storage and transport are straight forward
- A DNA sequence can be changed easily in the laboratory. This means that we can respond to changes in the infectious agent
- Synthesis, the antigenic protein(s) that are produced and processed (post-translation ally modified) in the same manor as the proteins of the virus against which protection is produced.

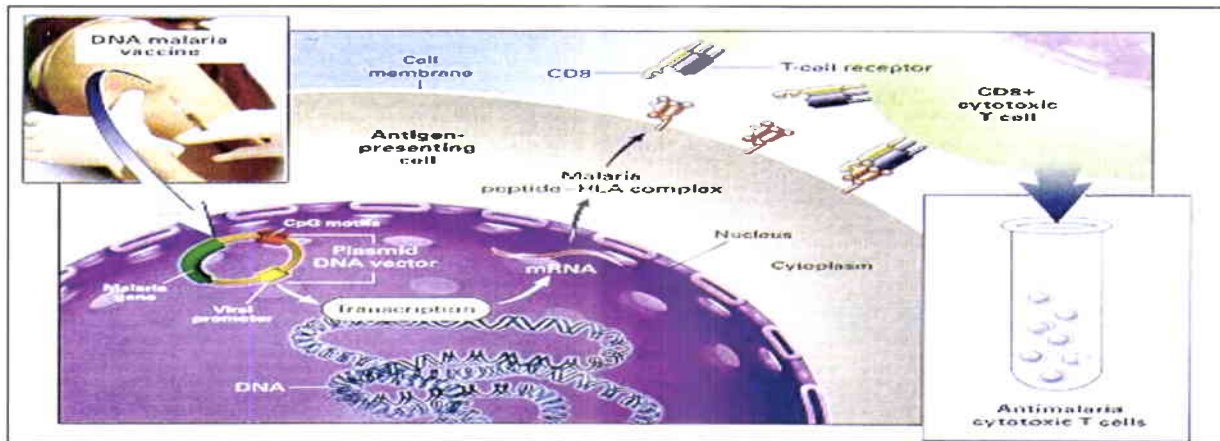
DNA Vaccine

Disadvantages

- Potential integration of plasmid into host genome lead insertional mutagenesis
- Induction of autoimmune responses (e.g. pathogenic DNA antibodies)
- Induction of immunologic tolerance (e.g. where the expression of the antigen in the host may lead to specific non- responsiveness to that antigen)

DNA is in the form of a plasmid containing:

- A strong promoter that functions in mammalian cells
- The gene of interest
- A polyA and transcription termination sequence
- An antibiotic resistance gene
- A bacterial origin of replication to allow the plasmid to be propagated in bacteria.
- To minimize the possibility of plasmid replication or integration into the mammalian chromosomes, the plasmid does not contain an origin of replication that functions in mammalian cells.
- Since expression of many mammalian genes may be dependent on, or increased by, the inclusion of an intron, most vectors also contain an intron inserted into the gene of interest.

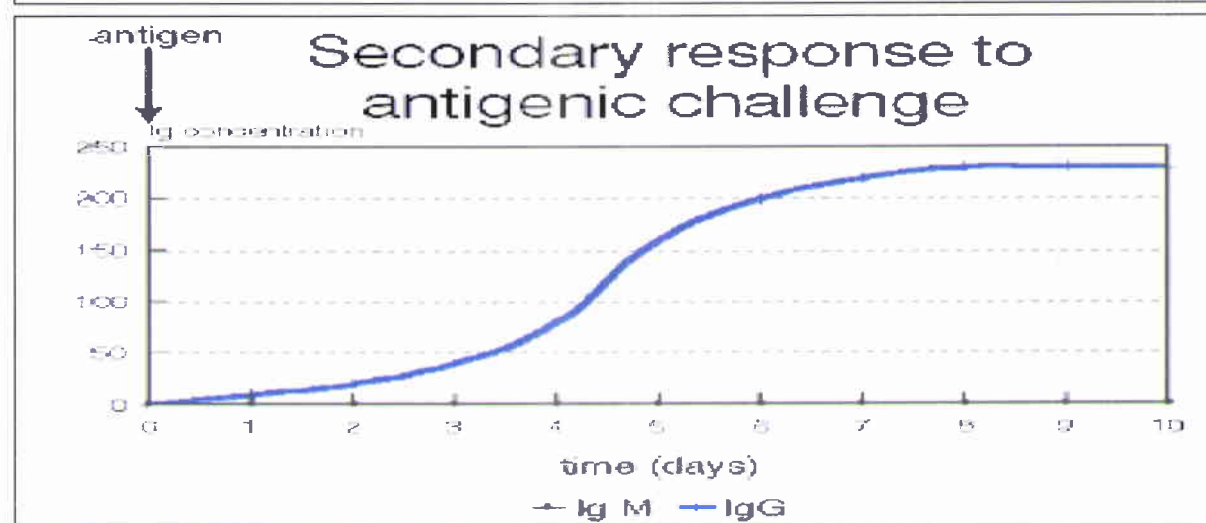
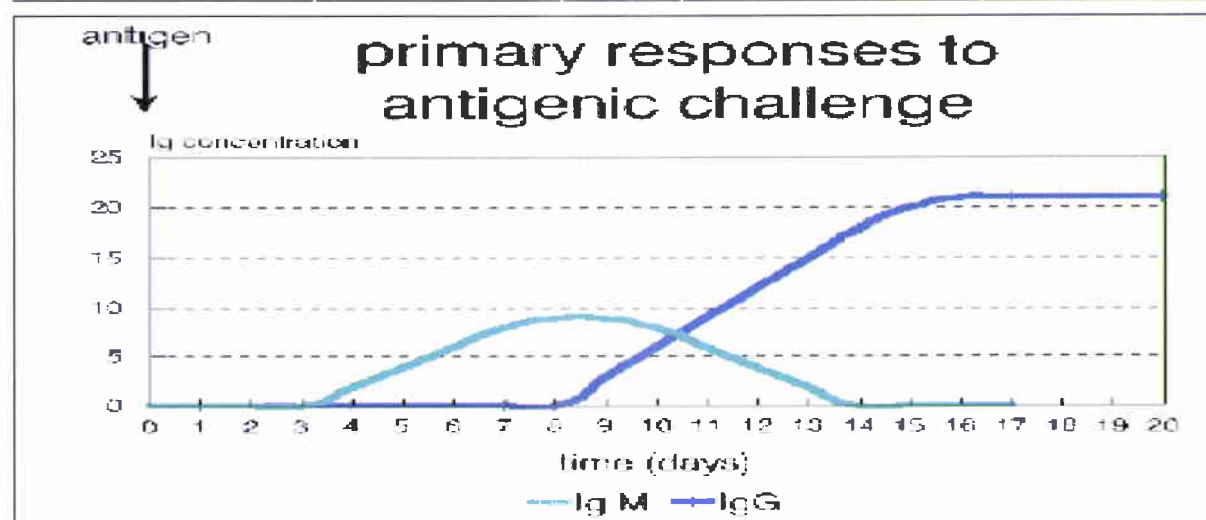


Antisense Therapeutic Agents

- RNA oligomers are used to block the translation of messenger RNA molecules that are required for progression of a disease.
- In a similar method, ribozymes are being tried to destroy mRNA from pathogens.

Some Vaccine Successes US numbers

Disease	Total cases	Year	Cases in 1994	% Change
Diphtheria	206,939	1921	2	-99.9%
Measles	894,134	1941	963	-99.9%
Mumps	152,209	1968	1537	-99.9%
Pertussis	265,269	1934	4617	-99.9%



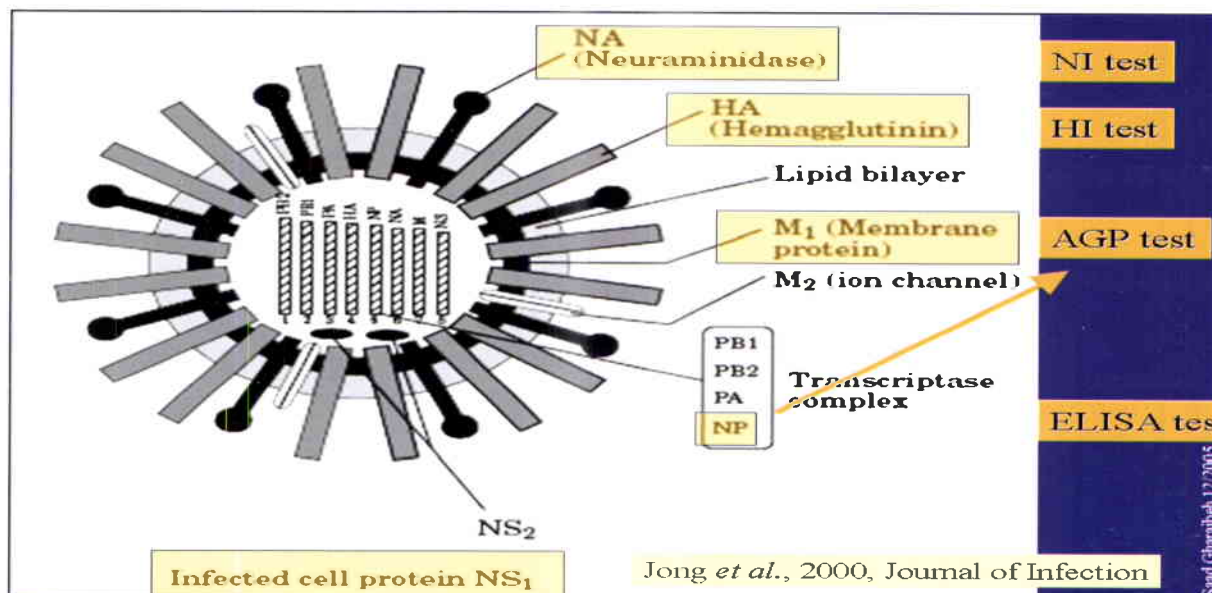


Table S.2. Gene and protein information on *Influenza virus A* (54, 125, 159).

Segment	Genome Length (nucleotides)	Proteins Coded Name	Length (aa)	App. no. molecules/virion	Type	Function
1	2341	PB1	759	80000	Polymerase complex	Transcriptase
2	2341	PB2	757	80000	Polymerase complex	Endonuclease
3	2233	PA	716	80000	Polymerase complex	1. Viral RNA replication; 2. Proteolytic activity
4	4778	Hemagglutinin (HA)	566	500	Integrated type I transmembrane glycoprotein	1. Virus attachment to sialyloligosaccharide cell receptors including hemagglutinating activity; 2. Fusion; 3. Antibody-mediated viral neutralization
5	1565	Nucleoprotein (NP)	498	1000	Major structural protein associated with viral RNA segments	1. Cytoplasmic to nuclear transport of viral RNP; 2. Necessary for full length vRNA synthesis; 3. Antigen target for cytotoxic T lymphocytes
6	1413	Neuraminidase (NA)	454	100	Integrated type II membrane glycoprotein	1. Cell receptor-destroying enzyme; 2. Antigenic; 3. Antibody-mediated virus neutralization; 4. Virus spread
7	1027	Matrix 1 (M1)	252	1000	Nonenveloped structural protein beneath viral envelope	Most abundant protein; role in virus budding
8	890	Matrix 2 (M2)	67	20000	Integrated type III glycosylated anion channel protein	Ion channel
9	890	Non-structural 1 (NS1)	280	-	RNA-binding protein	1. Inhibit processing of cellular mRNA; 2. Enhance of cytoplasmic translation of viral mRNA; 3. Possible inhibition of interferon pathways
10	121	Nonstructural 2 (NS2)	121	150-200	Nuclear export protein	Nuclear export of viral RNP

HI test

ELISA test

NI test

AGP test

Replication

- Binding HA to sialic acid cell receptors
- Receptor mediated endocytosis
- Low pH induce conformational change exposing the fusion peptide of HA
- Membrane fusion
- Nucleocapsid release into cytoplasm then nucleus
- Viral mRNA and protein produced
- HA and NA glycosylated in RER
- Transport to surface and embedded in cell membrane
- Budding from plasma membrane

HPAI and LPAI

- Needs HA0 cleaved into HA1 & HA2
- Intracytoplasmic:
 - Furin-like enzyme (ubiquitous proteases): HP
 - Trypsine-like enzyme: All AIV

Basic Immunology

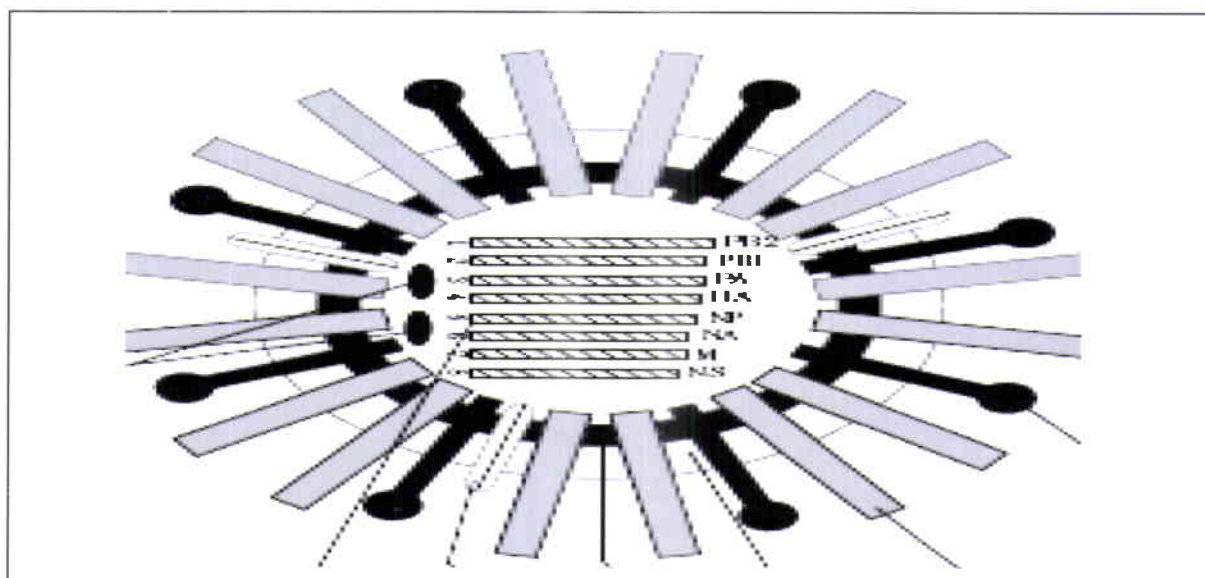
- Almost all cells in the body express MHCI. This molecule present antigens that are synthesized within the cells to CD8 T-Cells (responsible for cell mediated immunity)
- Some cells (macrophage type cells) express MHCII. This molecule present internalized (phagocytosed) antigens to CD4 T-Cells (responsible for induction of humoral antibodies)
- Killed vaccines do not replicate in cells and hence the antigens are only expressed on MHCII to CD4 T-cells which in turn activate B-Cells to secrete antibodies (humoral immunity) specific to the presented antigen.
- Live vaccines replicate in cells and get phagocytosed by antigen presenting cells. They will be expressed on both MHCI and MHCII molecules and hence activate both CD4 and CD8 T-cells this will result in both cell-mediated and humoral immune response.

Avian Influenza Vaccines

- Killed vaccines: A whole virus produced in egg culture, inactivated, adjuvanted, and administered by parenteral injection.
 - Homologous: The exact subtype as field strain
 - Heterologus: Different N subtype
- Viral vector vaccine: The hemagglutinin gene is introduced to another virus and is given by the route of the carrier virus.
- Subunit vaccine: The hemagglutinin protein is expressed in an expression system (baculovirus).
- DNA vaccine: Naked DNA of hemagglutinin introduced by direct I/M or by gene gun.
- No live vaccines are used for poultry.

Killed vaccines

- Will result in only humoral antibody response against all viral proteins except NS1.
- Will significantly reduce shedding of the challenge virus.



- Will interfere with AGP, ELISA, HI, and NI if (homologous).
- If sequence of the HA gene is identical to the challenge virus it may eliminate shedding completely.

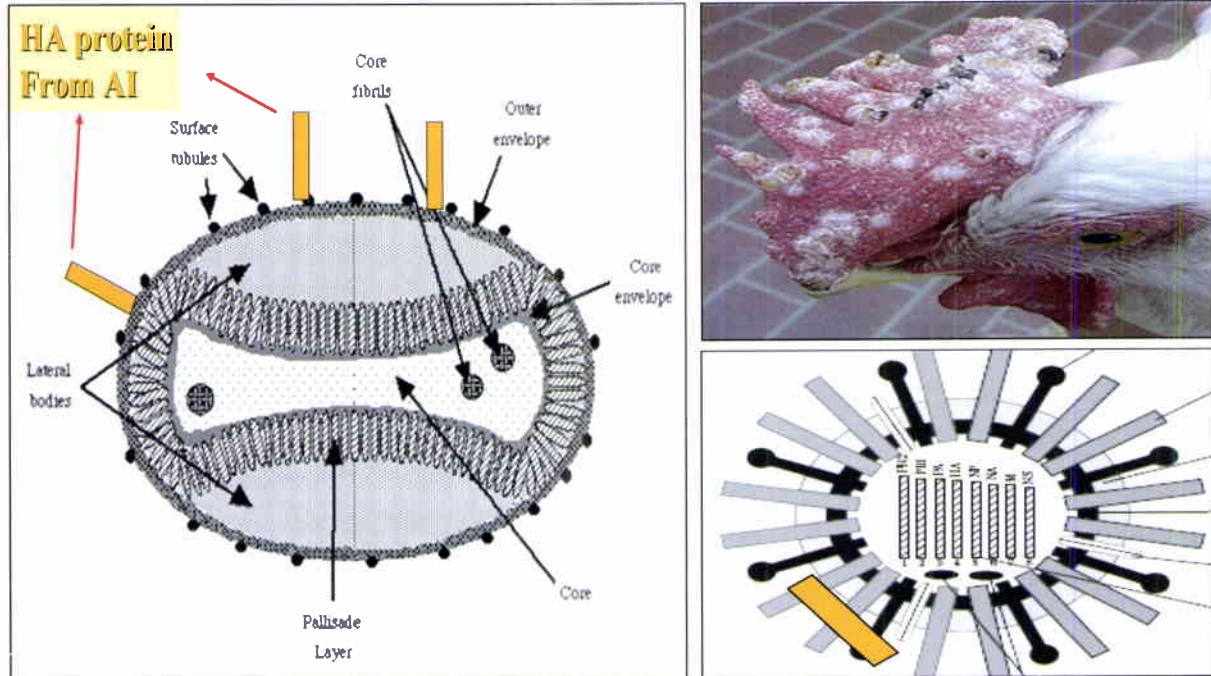
Table 1

Haemagglutinin (HA) protein similarity, clinical signs and death rates for chickens immunized at 4 weeks of age with inactivated avian influenza vaccines and challenged intranasally 3 weeks later with highly pathogenic A/Chicken/Queretaro/14588/95 (H5N2) virus

Vaccine virus	Abbreviations	HA protein similarity with challenge virus (%)	No. of chickens with clinical signs/total	No. of deaths/total
Sham	Sham	0	10/10	9/10
A/Turkey/Oregon/71 (H7N3)	TO/71	35.9	10/10	9/10
A/Turkey/Wisconsin/68 (H5N9)	TW/68	91.9	1/10	1/10
A/Mallard/Ohio/556/87 (H5N9)	MO/87	93.1	0/10	0/10
A/Chicken/Mexico/31381-7/94 (H5N2)	M10/93	96.9	0/10	0/10
A/Chicken/Mexico/26654-1374/94 (H5N2)	M5/94	95.4	1/10	1/10
A/Turkey/Minnesota/10734-5/95 (H5N2)	TM/95	92.5	0/10	0/10
A/Chicken/Jalisco/14589-660/94 (H5N2)	J12/94	97.9	0/10	0/10
A/Chicken/Queretaro/14588-19/95 (H5N2)	Q1/95	100	0/10	0/10
A/Chicken/Veraacruz/28159-398/95 (H5N2)	V1/95	97.9	1/10	1/10
A/Chicken/Puebla/28159-474/95 (H5N2)	P3/95	93.1	1/10	1/10
A/Chicken/Chiapas/28159-488/95 (H5N2)	C4/95	96.7	0/10	0/10

Swayne et al., 2000, Veterinary Microbiology

Viral Vector Vaccine



- Will result in cell mediated immunity and limited humoral antibody against HA.
- Will significantly reduce shedding of the challenge virus.
- Will not interfere with AGP, ELISA, and NI.
- May give low percent reactions (9%) on HI test.
- The disadvantages include:
 - Does'nt work if chickens have immunity against the vector
 - Cannot evaluate the protectiveness of the flock

Table 1. Expt. 1. Morbidity and mortality data for chickens vaccinated at 1 day of age by SQ or WW route with Vector-HA or Vector-Control vaccine and challenged intranasally 3 wk later with HP Q1/95 AIV.

Group	Vaccination route	Vaccine dose (TCID ₅₀)	Morbidity ^a	Mortality ^a
Vector-HA	SQ	10 ^{1.5}	0/24 ^a	0/24 ^a
Vector-HA	SQ	10 ^{2.0}	0/25 ^a	0/25 ^a
Vector-HA	SQ	10 ^{3.0}	0/25 ^a	0/25 ^a
Vector-Control	SQ	10 ^{3.5}	25/25 ^b	24/25 ^b
Vector-HA	WW	10 ^{1.5}	3/25 ^a	2/25 ^a
Vector-HA	WW	10 ^{2.0}	1/24 ^a	1/24 ^a
Vector-HA	WW	10 ^{3.0}	0/25 ^a	0/25 ^a
Vector-Control	WW	10 ^{3.5}	25/25 ^b	24/25 ^b

^aDifferent superscript lowercase letters denote significant differences between Vector-HA and Vector-Control groups; Fisher's exact test, $P < 0.05$.

Table 2. Expt. 1. AGP and HI serologic test results for chickens vaccinated at 1 day of age by SQ or WW route with Vector-HA or Vector-Control vaccine and challenged IN 3 wk later with HP Q1/95 AIV. Sampling dates were 3, 4, and 5 wk postvaccination (prechallenge, 1 wk postchallenge PC, and 2 wk PC, respectively).

Group	Vaccination route	Vaccine dose (TCID ₅₀)	Serologic response (no. positive/total) ^{a,b}					
			Prechallenge		1 wk PC		2 wk PC	
			AGP	HI	AGP	HI	AGP	HI
Vector-HA	SQ	1.5	0/24 ^a	0/24 ^a	19/24 ^a	24/24 ^(3.6,7)	23/24 ^a	24/24 ^(3.6,7)
Vector-HA	SQ	2.0	0/25 ^a	1/25 ^(1.2,8)	13/25 ^a	24/25 ^(3.6,7)	23/25 ^a	25/25 ^(3.6,7)
Vector-HA	SQ	3.0	0/25 ^a	5/25 ^(1.2)	10/25 ^a	24/25 ^(3.6,7)	19/25 ^a	25/25 ^(3.6,7)
Vector-Control	SQ	3.5	0/25 ^a	0/25 ^a	0/1	0/1	0/1	0/1
Vector-HA	WW	1.5	0/25 ^a	0/25 ^a	17/23 ^a	22/23 ^(3.6,7)	23/23 ^a	22/23 ^(3.6,7)
Vector-HA	WW	2.0	0/24 ^a	0/24 ^a	12/23 ^a	20/23 ^(3.6,7)	22/23 ^a	22/23 ^(3.6,7)
Vector-HA	WW	3.0	0/25 ^a	0/25 ^a	13/25 ^a	24/25 ^(3.6,7)	25/25 ^a	24/25 ^(3.6,7)
Vector-Control	WW	3.5	0/25 ^a	0/25 ^a	1/1	1/1 ^(3.6,7)	1/1	1/1 ^(3.6,7)

^aAll Vector-HA- and Vector-Control-vaccinated chickens lacked AGP- and HI-positive sera at 2 wk post-vaccination (1 wk prechallenge).

^bDifferent superscript lowercase letters denote significant differences between AGP and HI data; Fisher's exact test, $P < 0.05$. The number in superscript parentheses is the log₁₀ of the positive geometric mean titers.

Table 3. Expt. 1. Virus isolation data for chickens SQ or WW vaccinated with Vector-HA or Vector-Control vaccines at 1 day of age or contact chickens (Vaccine-Contact) placed with immunized chickens. All chickens were challenged with 10⁷ ELD₅₀ of HP Q1/95 AIV, and oropharyngeal and cloacal swabs were taken on day 3 postchallenge.

Group	Vaccine dose (TCID ₅₀)	Route of immunization	Virus isolation [no. positive/total ^a (ELD ₅₀ /ml) ^a]	
			Oropharyngeal	Cloacal
Vector-HA	1.5	SQ	24/24 ^a (10 ^{3.7}) ^a	12/24 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vaccine-Contact	—	—	8/8 ^a (10 ^{3.7}) ^a	8/8 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vector-HA	3.0	SQ	25/25 ^a (10 ^{3.7}) ^a	9/25 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vaccine-Contact	—	—	10/10 ^a (10 ^{3.7}) ^a	9/10 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vector-Control	3.5	SQ	21/21 ^a (10 ^{3.7}) ^a	17/21 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vaccine-Contact	—	—	9/9 ^a (10 ^{3.7}) ^a	8/9 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vector-HA	1.5	WW	25/25 ^a (10 ^{3.7}) ^a	4/25 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vaccine-Contact	—	—	9/9 ^a (10 ^{3.7}) ^a	8/9 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vector-HA	3.0	WW	24/25 ^a (10 ^{3.7}) ^a	1/25 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vaccine-Contact	—	—	9/9 ^a (10 ^{3.7}) ^a	7/9 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vector-Control	3.5	WW	23/23 ^a (10 ^{3.7}) ^a	18/23 ^a (10 ^{3.7}) ^a
Vaccine-Contact	—	—	9/9 ^a (10 ^{3.7}) ^a	6/9 ^a (10 ^{3.7}) ^a

^aDifferent superscript lowercase letters indicate significant difference in frequency; Fisher's exact test, $P < 0.05$.

^bAverage of the log₁₀ titer expressed in ELD₅₀/ml; for statistical calculations, all isolation attempts without recovery of virus were given a value of 10^{0.5} ELD₅₀/ml. Data were normally distributed for oropharyngeal swabs but not for cloacal swabs. Significant differences ($P < 0.001$) in titers for oropharyngeal swabs (ANOVA) and cloacal swabs (Kruskal-Wallis) were noted for WW and SQ inoculation routes. Different superscript lowercase letters denote significance ($P < 0.05$) on multiple comparison tests (oropharyngeal swabs: Student-Neuman-Keuls method; cloacal swabs: Dunn's method).

Table 4. Expt. 2. Morbidity, mortality, and virus isolation data. Vector-HA and Vector-Control 5Q vaccinated 1-day-old chicks were IN challenged at 3 wk of age with HP Q1/95 AIV and transferred 2 days later to contact expose (CE) Vector-HA- and Vector-Control-vaccinated chickens.

Group	Virus challenge	Morbidity ^a	Mortality ^a	Virus isolation ^{a,b}			
				Day 3 posttransfer		Day 5 posttransfer	
				Oropharyngeal	Cloacal	Oropharyngeal	Cloacal
Vector-HA-IN	IN: Q1/95 AIV	0/30 ^a	0/30 ^a	—	—	—	—
Vector-Control-IN	IN: Q1/95 AIV	30/30 ^b	24/30 ^b	—	—	—	—
Vector-HA-CE	Contact: Vector-HA-IN	0/15 ^a	0/15 ^a	0/15 ^a	0/15 ^a	0/15 ^a	0/15 ^a
	Contact: Vector-Control-IN	0/15 ^a	0/15 ^a	1/15 ^a	0/15 ^a	4/15 ^b	0/15 ^a
Vector-Control-CE	Contact: Vector-HA-IN	0/15 ^a	0/15 ^a	0/15 ^a	0/15 ^a	0/15 ^a	0/15 ^a
	Contact: Vector-Control-IN	6/15 ^b	4/15 ^b	3/15 ^a	2/15 ^a	3/13 ^a	2/13 ^a

^aDifferent superscript lowercase letters denote significant difference for morbidity, mortality, and virus isolation data between treatment groups; Fisher's exact test, $P < 0.05$.

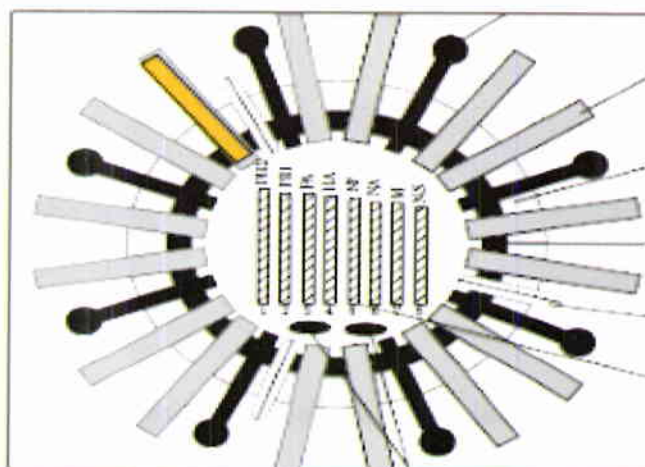
^bVirus isolation on pooled oropharyngeal and cloacal swabs was performed on day 2 postchallenge. The average log titers for pooled oropharyngeal swabs were $10^{4.0}$ and $10^{2.7}$ ELD₅₀/ml for chickens in Vector-HA-IN and Vector-Control-IN groups, respectively. The average log titer for pooled cloacal swabs from chickens in Vector-Control-IN groups was $10^{2.4}$ ELD₅₀/ml. No virus was isolated from pooled cloacal swabs of chickens in Vector-HA-IN groups.

Swayne et al., 1997, Avian Diseases

Subunit Vaccine

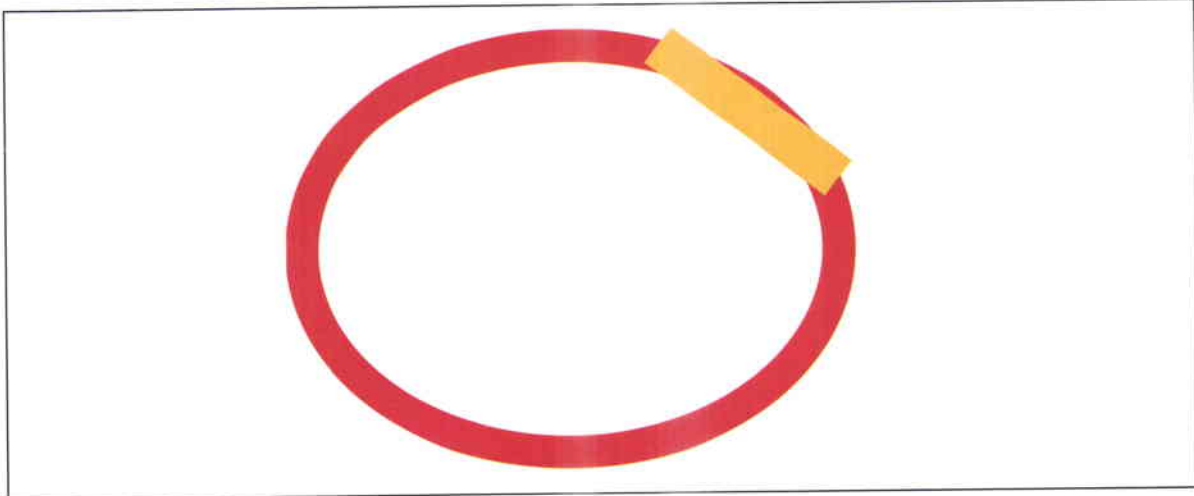
- Will result in humoral immunity and no cell mediated immunity.
- Will significantly reduce shedding of the challenge virus.
- Will not interfere with AGP, ELISA, and NI.
- Will interfere with HI test.

HA protein
From AI



DNA Vaccine

- Will result in humoral immunity and presumably cell mediated immunity.
- Will significantly reduce shedding of the challenge virus.
- Will not interfere with AGP, ELISA, and NI.
- Will interfere with HI test.



Advantages of Vaccines

- Reduces the number of chickens from which AI challenge virus could be reisolated.
- Decreased the titres of virus detected in the cloaca and oropharynx (up to 99.99%)
- Reduced environmental contamination and prevented subsequent bird to bird transmission.
- There is high association between the hemagglutinin sequence similarity and the ability to reduce shedding.

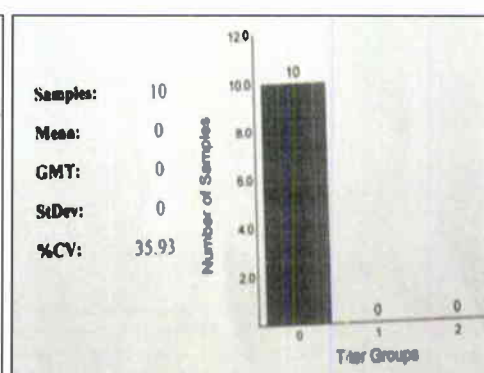
DIVA

Differentiating Infected from Vaccinated Individuals

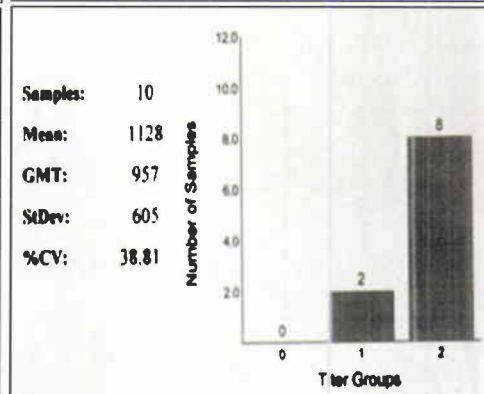
- The use of killed vaccine and unvaccinated sentinels: leaving 0.5-1% of the flock unvaccinated and marked (wing band) and these individuals will be subjected to serological monitoring.
- Heterogenous killed vaccine: Screen for field infection using NI.
- The use of viral vector vaccines (HA): Screen for field infection using AGP, ELISA, NI, and may be HI.
- The use of subunit vaccines (HA): Screen for field infection using AGP, ELISA, and NI.
- Measuring serological response to NS1 by ELISA or western blot.

Our Experience with H9N2 Vaccines

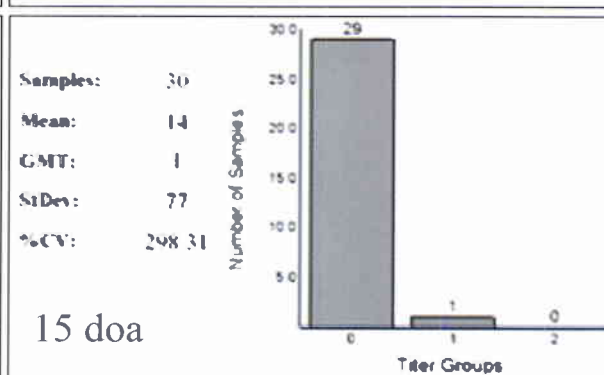
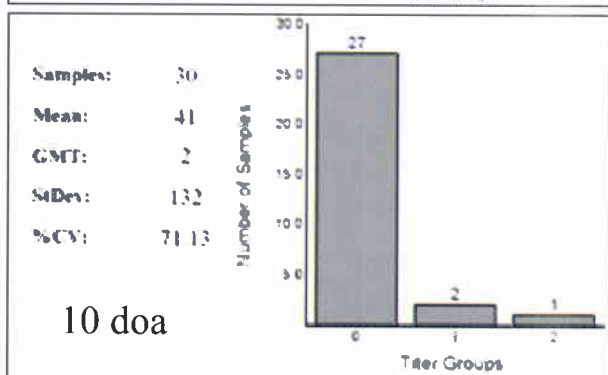
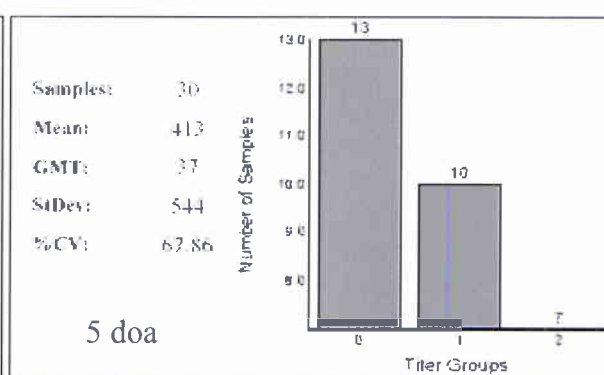
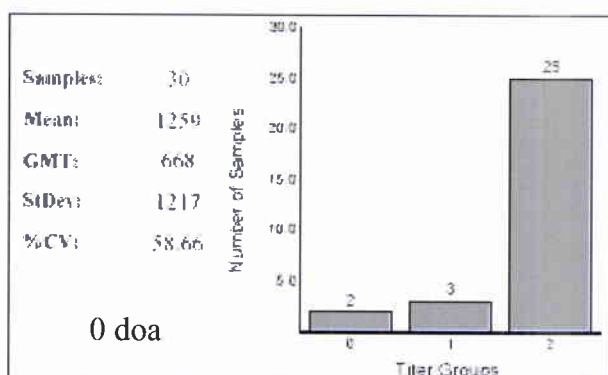
Flock:	OMAR 1	Agent:	AIV		
Dilution Plate:	SAAD1	Bleed Date:	6/8/03		
Producer:		Bleed Age:	4-2		
Flock Comments:					
Sample	Location	OD	S/P Ratio	Titer	Group
1	A8	0.17	0.11	0	0
2	A9	0.22	0.21	0	0
3	A10	0.18	0.13	0	0
4	A11	0.19	0.16	0	0
5	A12	0.26	0.28	0	0
6	B1	0.17	0.11	0	0
7	B2	0.19	0.16	0	0
8	B3	0.26	0.29	0	0
9	B4	0.24	0.26	0	0
10	B5	0.21	0.20	0	0

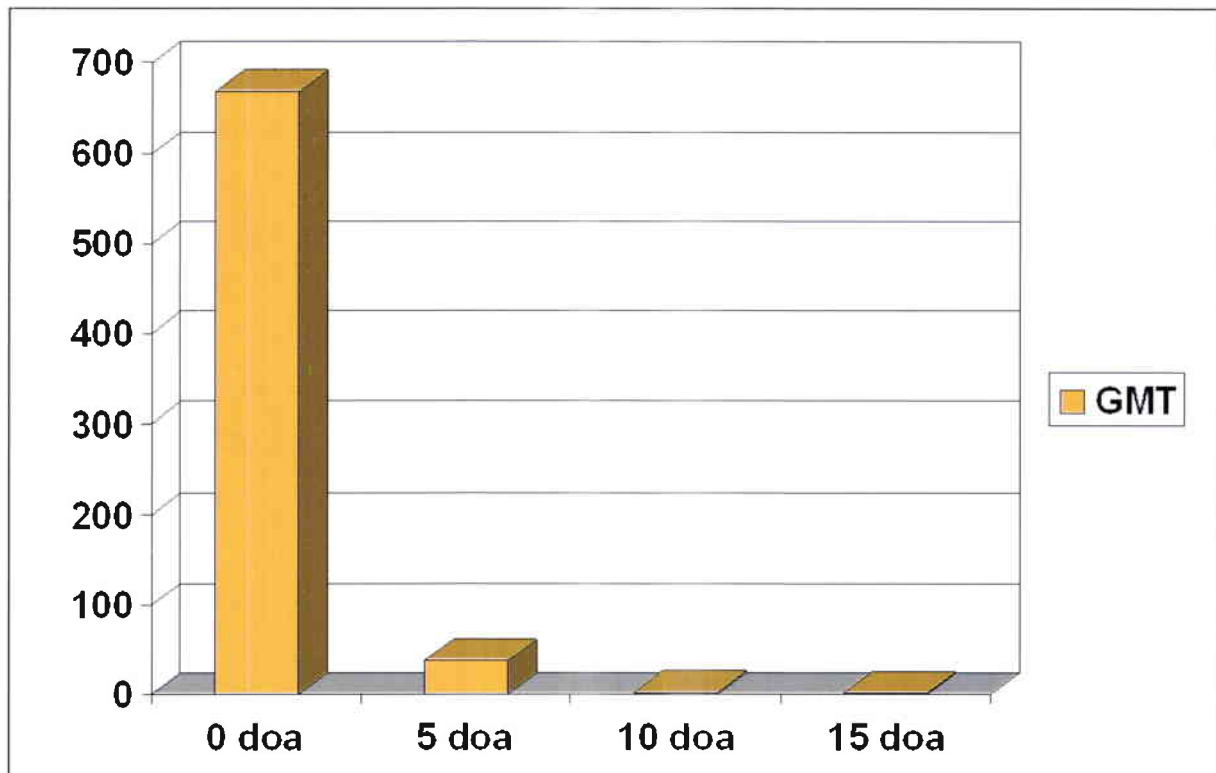


Flock:	OMAR 2	Agent:	AIV		
Dilution Plate:	SAAD1	Bleed Date:	6/22/03		
Producer:		Bleed Age:	11-16-2		
Flock Comments:					
Sample	Location	OD	S/P Ratio	Titer	Group
1	B6	0.45	0.67	880	2
2	B7	0.50	0.77	1067	2
3	B8	0.62	1.02	1625	2
4	B9	0.41	0.59	730	2
5	B10	0.70	1.18	2018	2
6	B11	0.70	1.18	2008	2
7	B12	0.31	0.39	398	1
8	C1	0.27	0.31	278	1
9	C2	0.52	0.82	1175	2
10	C3	0.50	0.78	1100	2

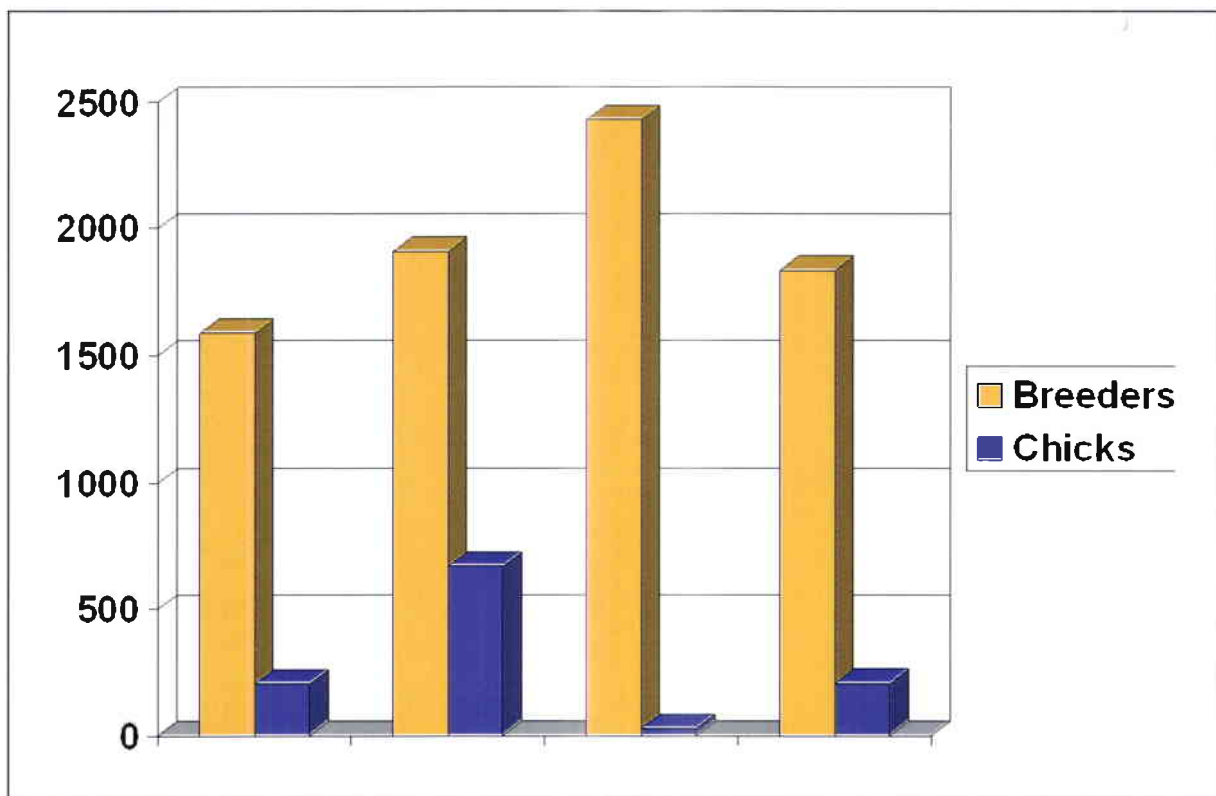


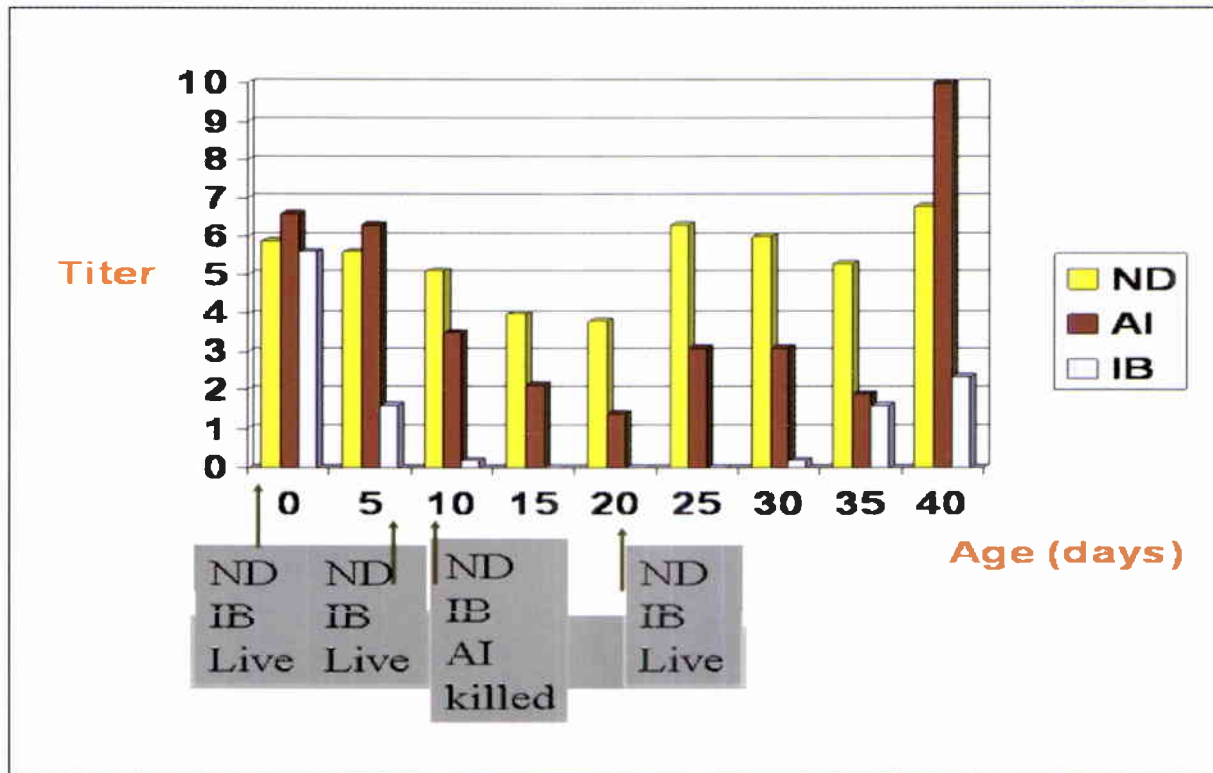
Decay Of Maternal Ab for AIV





Transfer of Maternal Ab for AIV





Vaccine / Industry / Politics

- The use of vaccine to aid in the control of AI is a political issue and different people have a different say on this.
- In some countries financial constraints preclude stamping out policy.
- In some countries, export markets are not an issue to prevent vaccination.
- In some countries, stamping out attempt may be unsuccessful.
- “With the ubiquitous nature of AI in wild birds it may be vaccination the most feasible tool to soften the sting of AI” Beard 1981
- “Field results have not shown vaccine to increase the risk of undetected infection; in fact, field experience has shown that vaccination greatly enhances a control program.” Halvorson, 2002, Avian Pathology
- There is no way a vaccinated flock can be a greater threat to disease control than a non-vaccinated flock that breaks with AI. Halvorson, 2002, Avian Pathology
- Epidemiological observations have shown that serologically positive birds are not associated with AI transmission. (Kradel, 1992,
- Should the government set the rules when no indemnity (compensation) is paid?

Thank You

BIOSECURITY FOR POULTRY AT ALL LEVELS

Prepared by : Dr. Yasin Amro

Implemented by : Eng. Nissreen Lutfi

The Disease

Any deviation in the body from its normal status and or any abnormal physiological functions.

Bio-security for Poultry

- Bio-security is a practice designed to prevent the spread of disease into your farm.
- It is accomplished by maintaining the facility in such a way that there is minimal traffic of biological organisms (viruses, bacteria, rodents, etc.) across its borders.
- Bio-security is the cheapest, most effective means of disease control available. No disease prevention program will work without it.

Bio-security has three major components

1. Isolation:

- Isolation refers to the confinement of animals within a controlled environment. A fence keeps your birds in, but it also keeps other animals out.
- Isolation also applies to the practice of separating birds by age group.
- In poultry operations, all-in/all-out management styles allow simultaneous depopulation of facilities between flocks and allows time for periodic clean-up and disinfection to break the cycle of disease.

2. Traffic control:

- Traffic control includes both the traffic into your farm and the traffic patterns within the farm.

3. Sanitation:

- Sanitation addresses the disinfection of materials and equipment entering the farm and the cleanliness of the personnel on the farm.

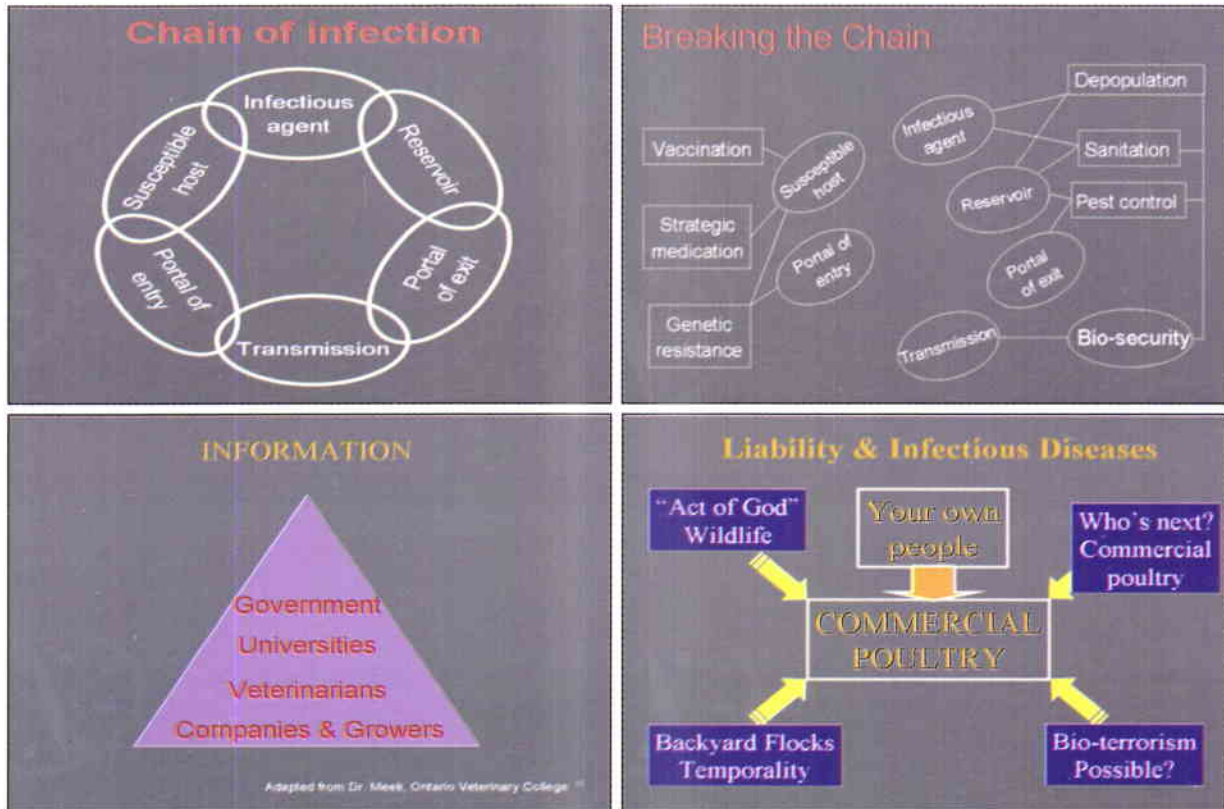
Infectious diseases can be spread from farm to farm by:

- Introduction of diseased birds
- Shoes and clothing of people who move from flock to flock .
- Introduction of healthy birds who have recovered from disease but are now carriers
- Contact with inanimate objects (fomites) that are contaminated with disease

organisms.

- Carcasses of dead birds that have not been disposed of properly Impure water, such as surface drainage water.
- Rodents and free-flying birds .
- Insects .
- Contaminated feed and feed bags.
- Contaminated premises through soil or
- old litter .
- Air-borne fomites.
- Egg transmission

Of all of these factors, the introduction of new birds and traffic pose the greatest risk to bird health on exotic fowl farms. Properly managing these two factors should be a top priority on your farm.



Concordance Position

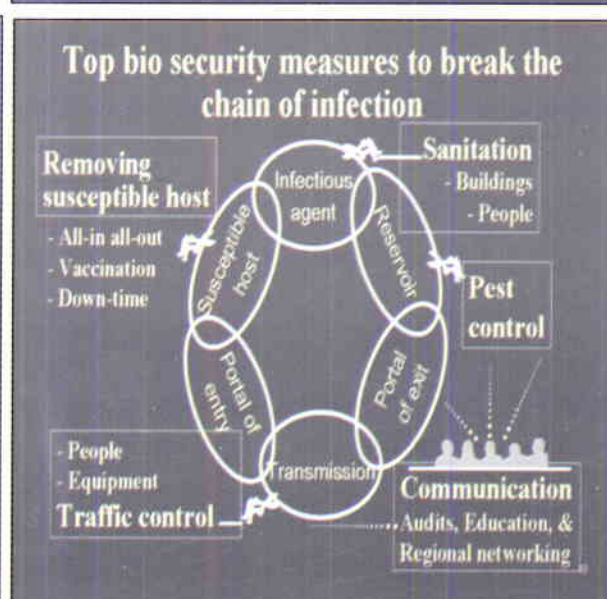
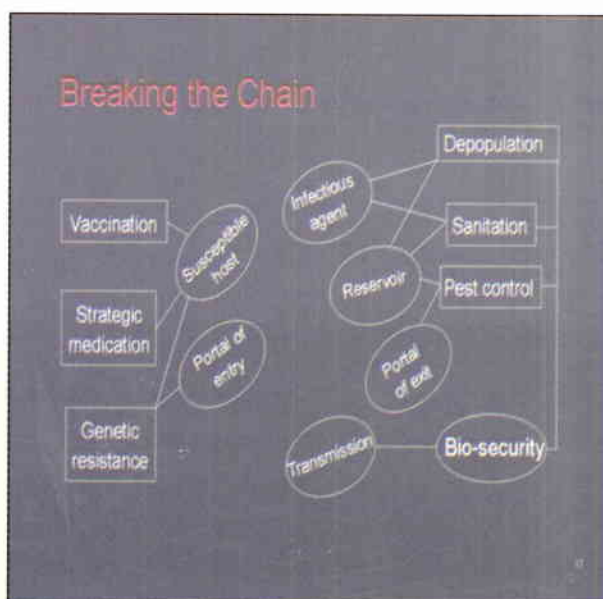
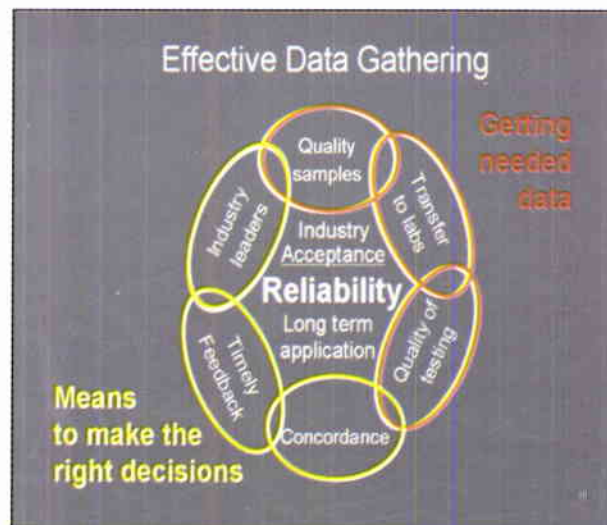
Individual responsible to ensure that each component of the data collection and communication systems is functional and active:

- Lab results
- Flock information
- Implementation of control measures

- Reports
- FOR DECISION MAKING & EPIDEMIOLOGICAL STUDIES
- What is needed?
- People
 - Disease definitions & Diagnostics
 - GIS & communication tools
 - Who will provide authorizations?
 - Who will provide information?
 - Who should be contacted for feedback?
 - Confidentiality issues – data sharing
 - Who will pay?
 - What can be communicated to growers by government/University people?
- Partnerships - Agreement
- Concordance position
- Flexibility
- Feedback
- Action plan
- Audits – validation
- Adequate funding

SANITATION

Sanitation addresses the disinfection of materials and equipment entering the farm and the cleanliness of the personnel on the farm.



HOW DO I DISINFECT MY PREMISES?

To disinfect the premises of poultry farm, follow these steps .

First, clean.

1. Remove all bedding, feed, and manure.
2. Sweep out loose dirt.
3. Scrub all surfaces with a detergent / disinfectant.
- 4- Rinse all detergent and organic matter from surfaces.

— A steam or high-pressure water hose may be helpful for steps 3 and 4.

Next, sanitize.

5. Apply the disinfectant.
6. Allow the disinfectant to dry completely.
7. Reapply the disinfectant and allow it to dry a second time (optional).
8. Bed the area with fresh materials and rinse all water and feeding equipment before refilling them.

When choosing a disinfectant, consider these characteristics:

*** Cost :**

- Efficacy (killing efficiency against viruses, bacteria, fungi).
- Activity with organic matter .
- Toxicity (relative safety to animals).
- Residual activity.
- Effect on fabric and metals
- Activity with soap.
- Solubility (pH , alkalinity , acidity)
- Contact time
- Temperature

Disinfectants can be divided into the following classes based on their chemical composition:

- Phenols .
- Hypo chlorites (chlorine).
- Iodophors (iodine) .
- Quaternary ammonium .
- Formaldehyde gas
- Formaldehyde powder
- Alkali (lye)
- Chlorhexidine (Nolvasan)

Properties and uses of disinfectants					
Properties	Chlorine	Iodine	Phenol	Quats	Form-aldehyde
Bactericidal	+	+	+	+	+
Bacteriostatic	-	-	+	+	+
Fungicidal	-	+	+	±	+
Virucidal	±	+	+	±	+
Toxicity	+	-	+	-	+
Activity with organic matter *	++++	++	+	+++	+

- * = Number of + indicates degree of affinity for organic material
- Quats = Quaternary Ammonium Compounds

Properties and uses of disinfectants					
Properties	Chlorine	Iodine	Phenol	Quats	Form-aldehyde
Hatchery equipment	+	+	+	+	±
Water equipment	+	+	-	+	-
Personnel	+	+	-	+	-
Egg washing	+	-	-	+	+
Floor	±	-	+	+	+
Foot baths	-	-	+	+	-
Rooms	±	+	±	+	+

(+) : positive property / (-) : Negative property
(±) : limited activity for specific property

Diseases of chicken and lifespan of diseases away from chicken	
Diseases	lifespan away from bird
Bursal disease	Months
Coccidiosis	Months
Duck plague	Days
Fowl cholera	Weeks
Fowl coryza	Hours to days
Influenza	Days to weeks
Laryngotracheitis	Days
Marek's disease	Weeks
Newcastle	Days to weeks
Mycoplasmosis	Hours to days
Salmonellosis	Weeks
Avin tuberculosis Fatal wasting	Years



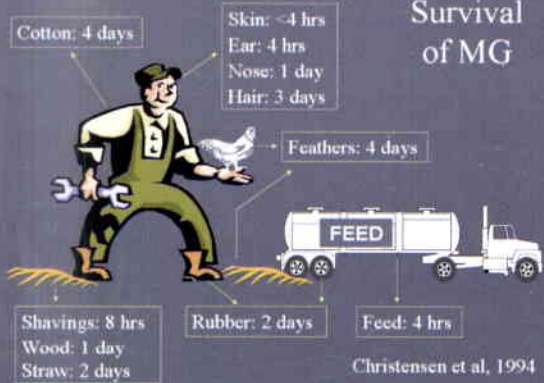
Cleaning & Disinfection

Washing with sprayer $> 30 \text{ kg/cm}^2$

Disinfection with
Phenols

Formaldehyde

Cresylic acid



Hand washing

- “Among healthcare providers, physicians exhibit the least frequent hand washing behavior”
- Nensiel, 1997

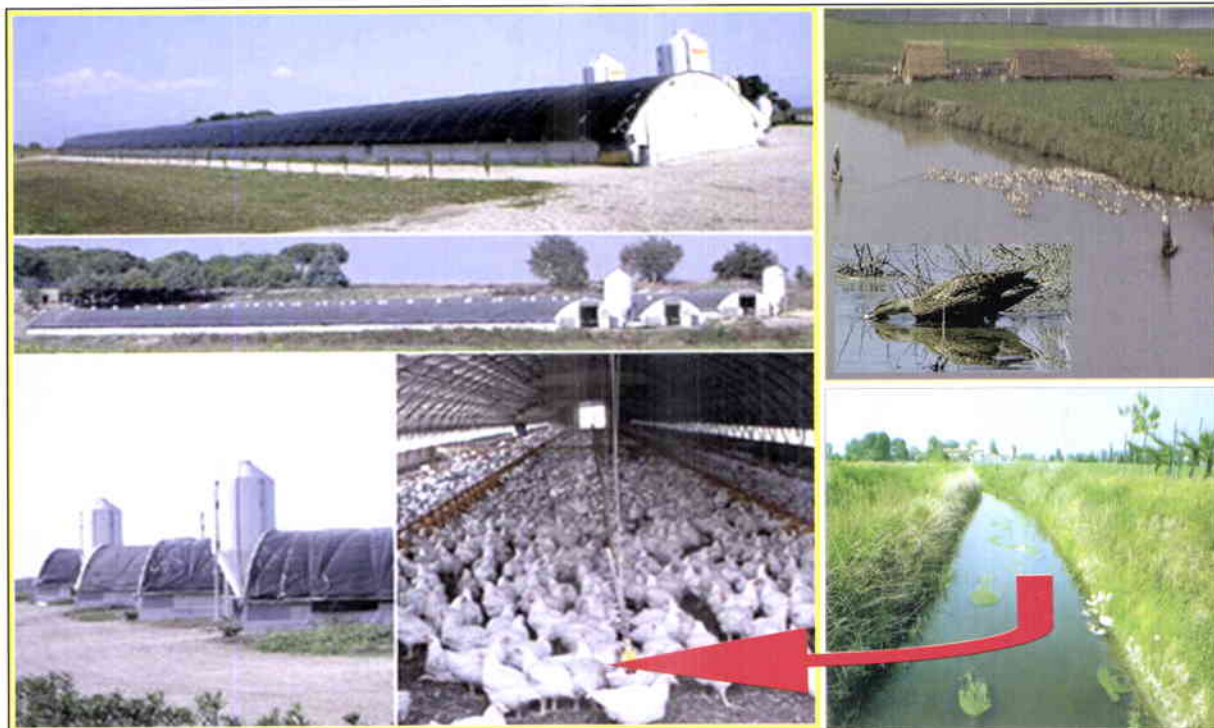
Washing hands:

- (observed) After using bathroom: 68%
- Before eating: 81%
- After changing a diaper: 78%
- After petting an animal: 48%
- After sneezing or coughing: 33%
- After handling money: 22%

American Society for Microbiology, 1996



Bio-security : The ecological role of the water



Bio-security : chicken manure, eggs





Washing

more important than disinfection



Data validity

Importance of having access to farms





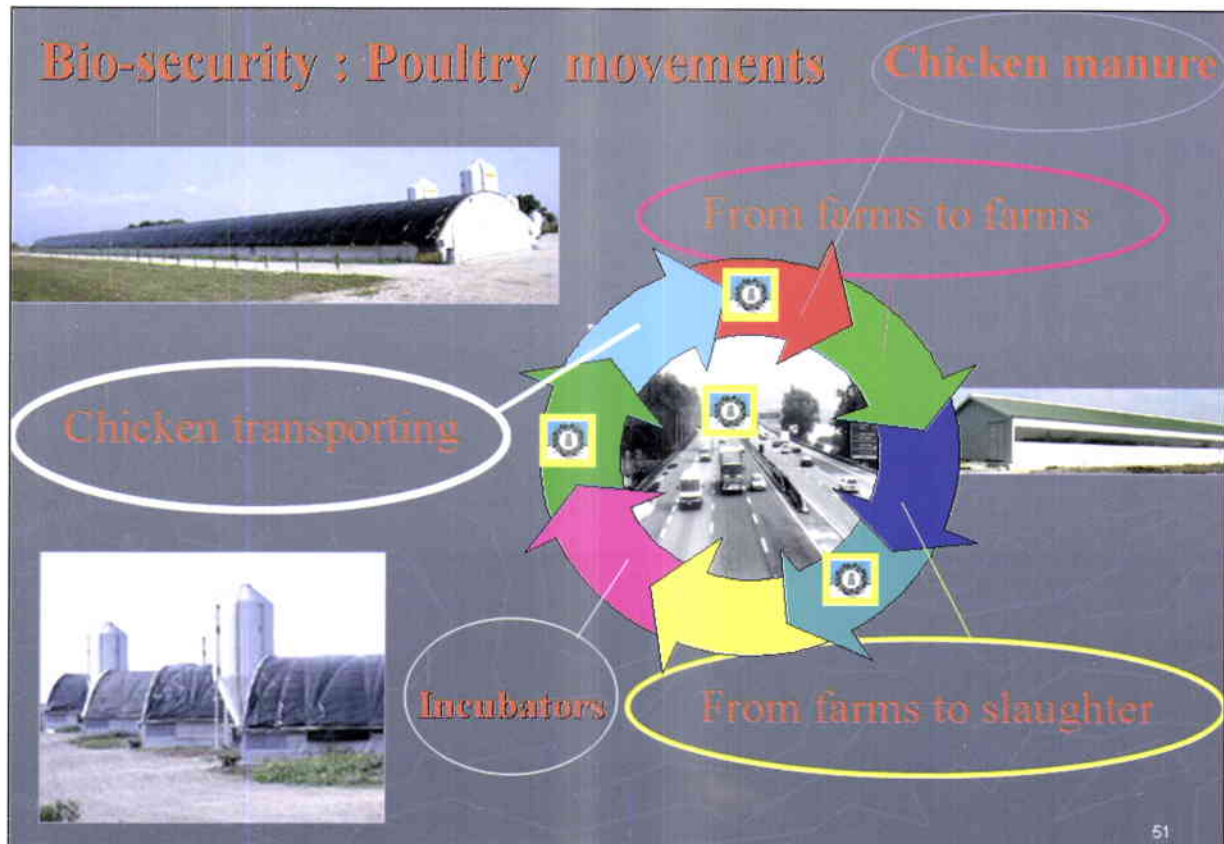
Traffic control

Traffic control includes both the traffic into your farm and the traffic patterns within the farm.



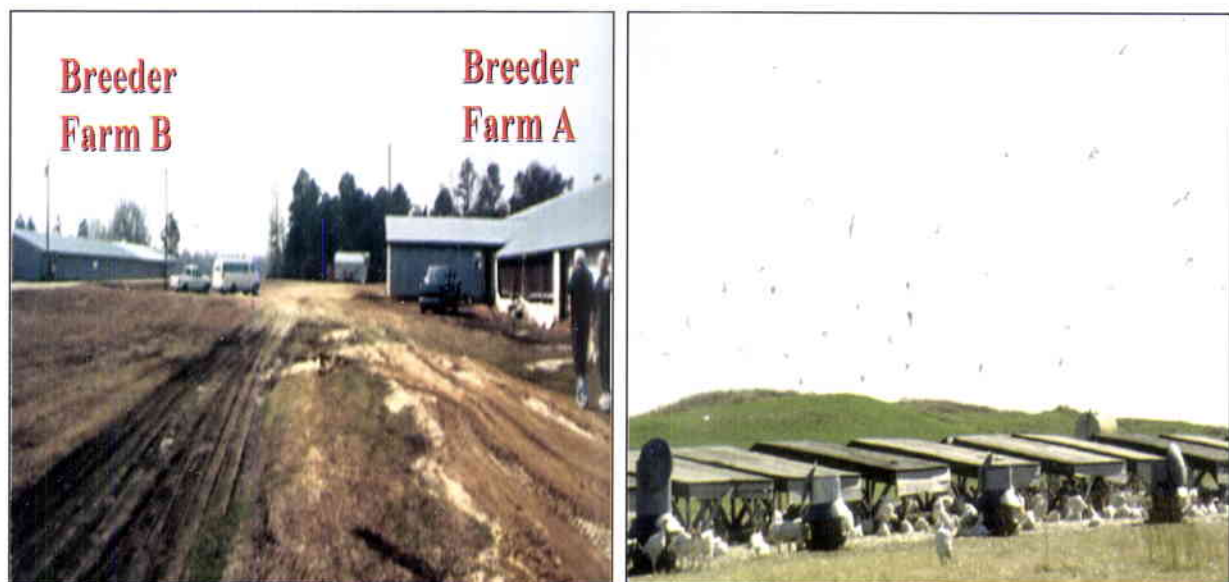
Gated entrance

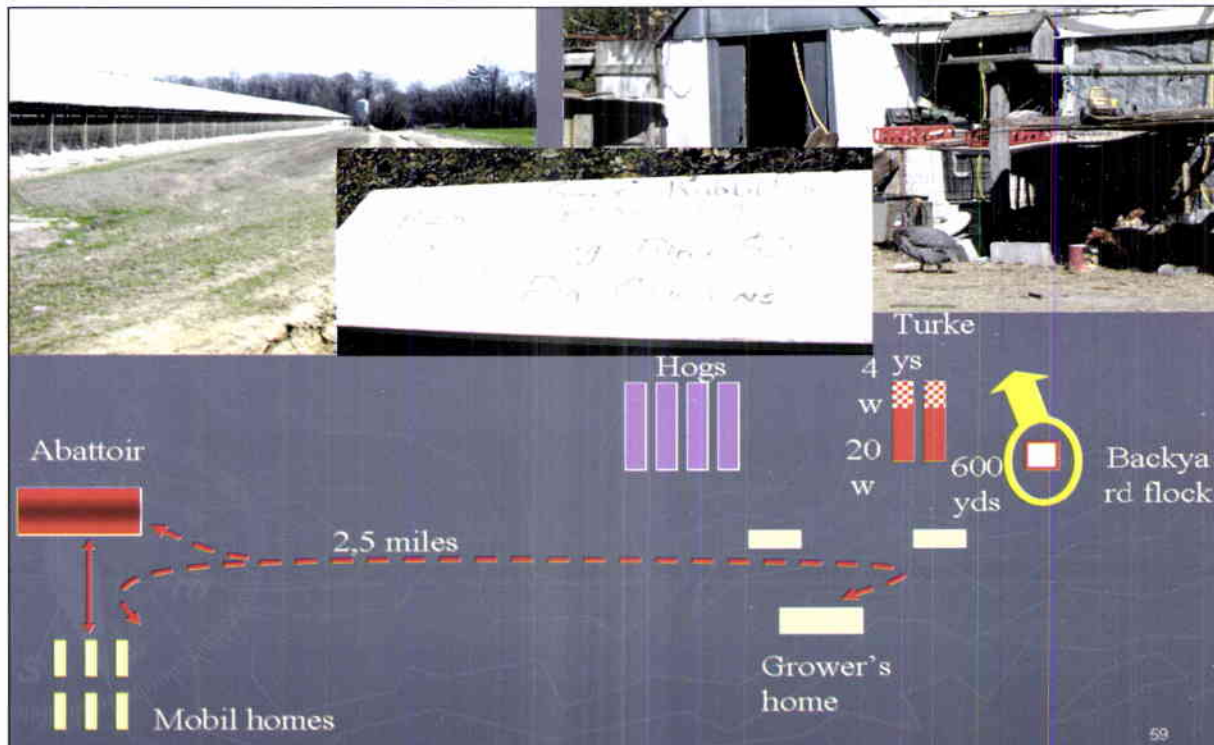
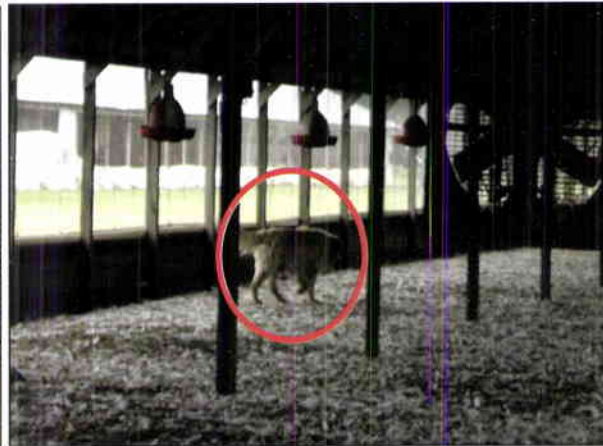




Isolation

Isolation refers to the confinement of animals within a controlled environment. A fence keeps your birds in, but it also keeps other animals out.







PCR

Ruba AL-Omari

P C R

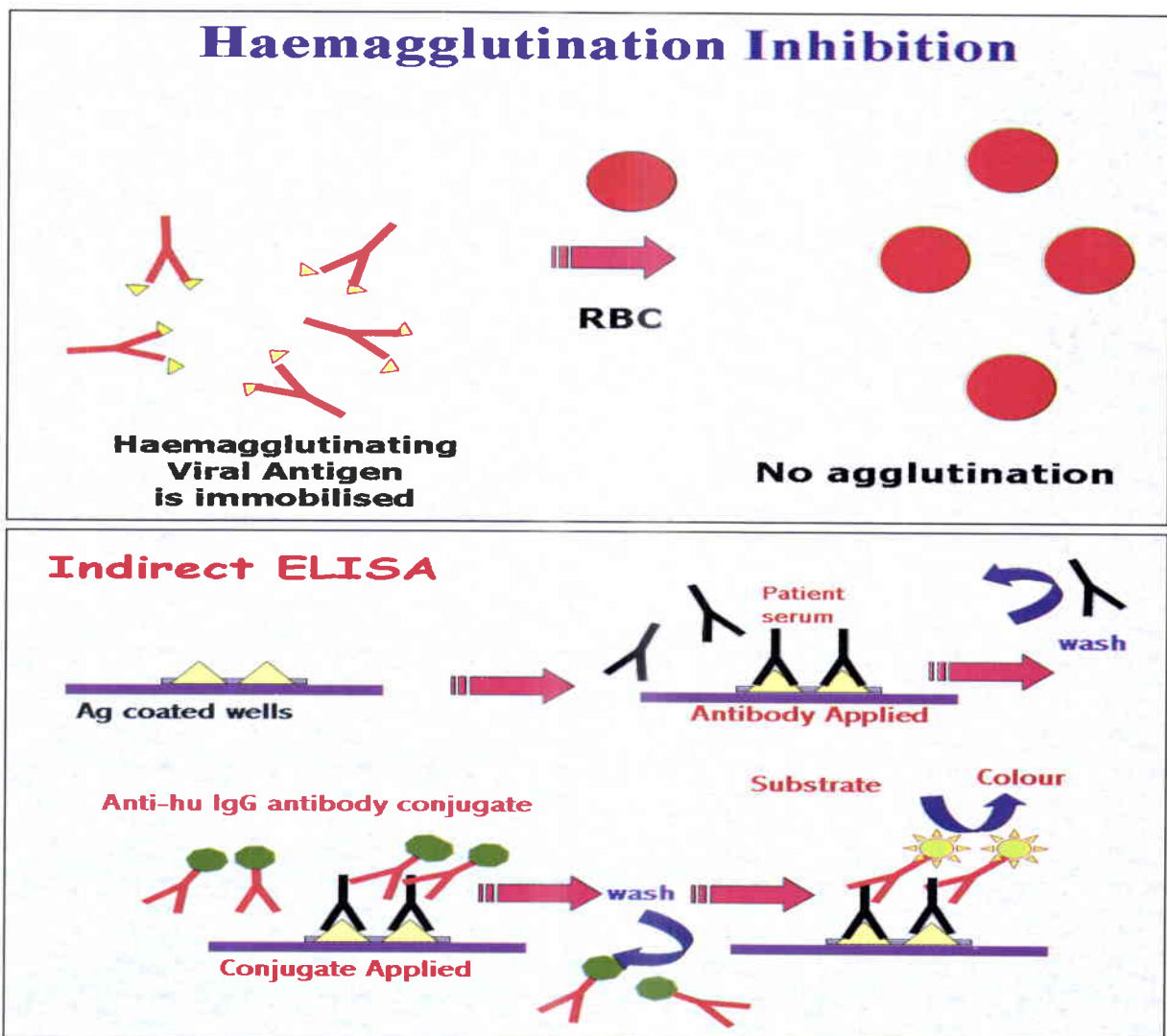
Ruba AL-Omari

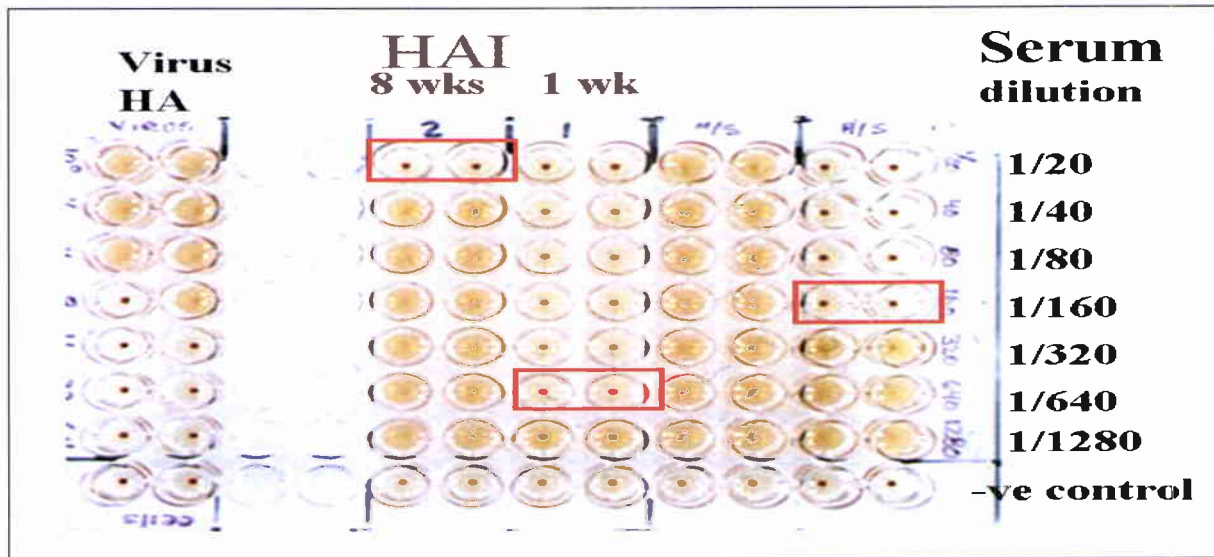
Diagnosis of AIV

- Clinical signs
- Detection of the virus.
- Detection of antibody.

Detection of antibody (serology)

- Haemagglutination Inhibition
- ELISA





Viral Detection:

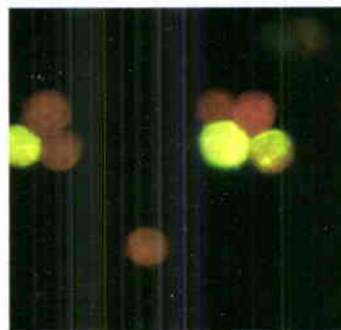
- Detection of the virus
- Isolation of the virus
- Detection of nucleic acid

Antigen detection

• Immunofluorescence

■ Direct

■ Indirect

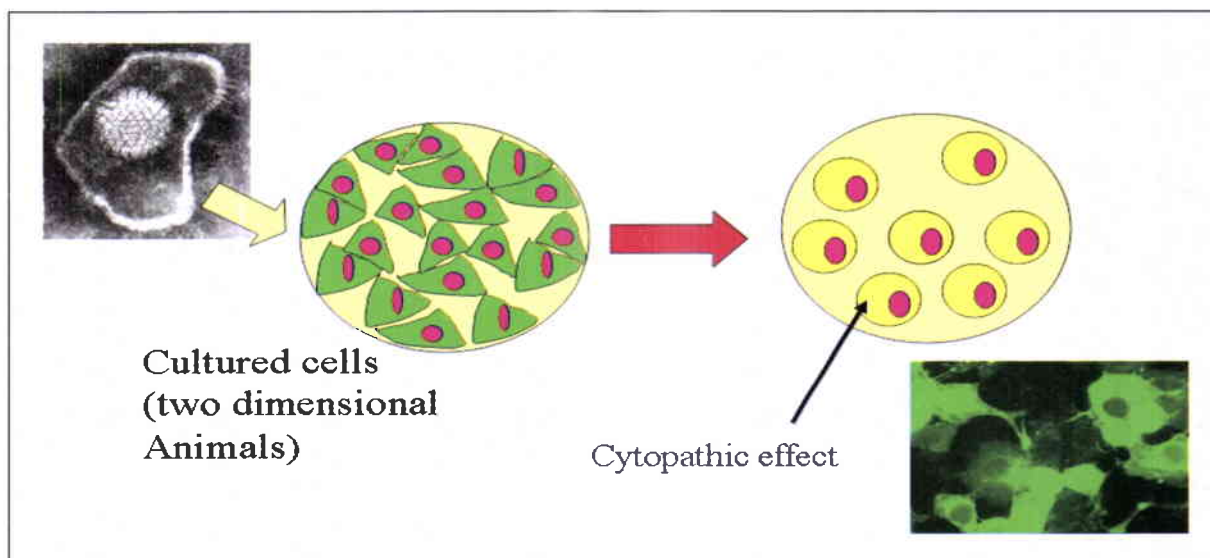


Influenza A IF

Isolation of the virus

- lab animal
- Egg inoculations
- Tissue culture

Virus detection

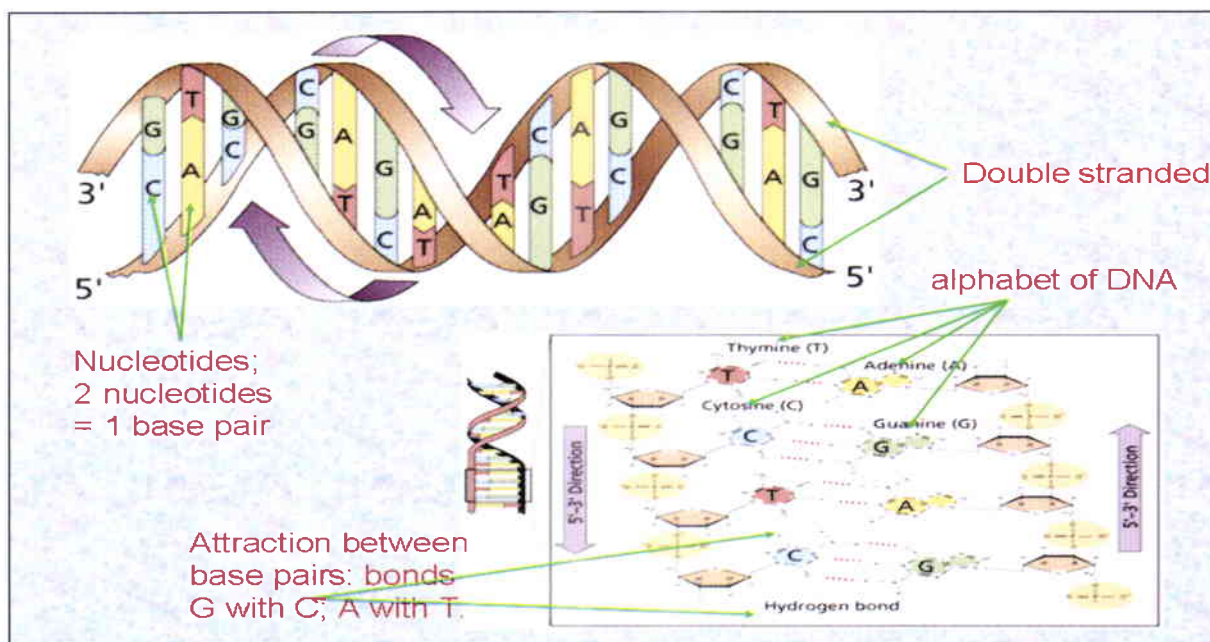


Molecular Methods

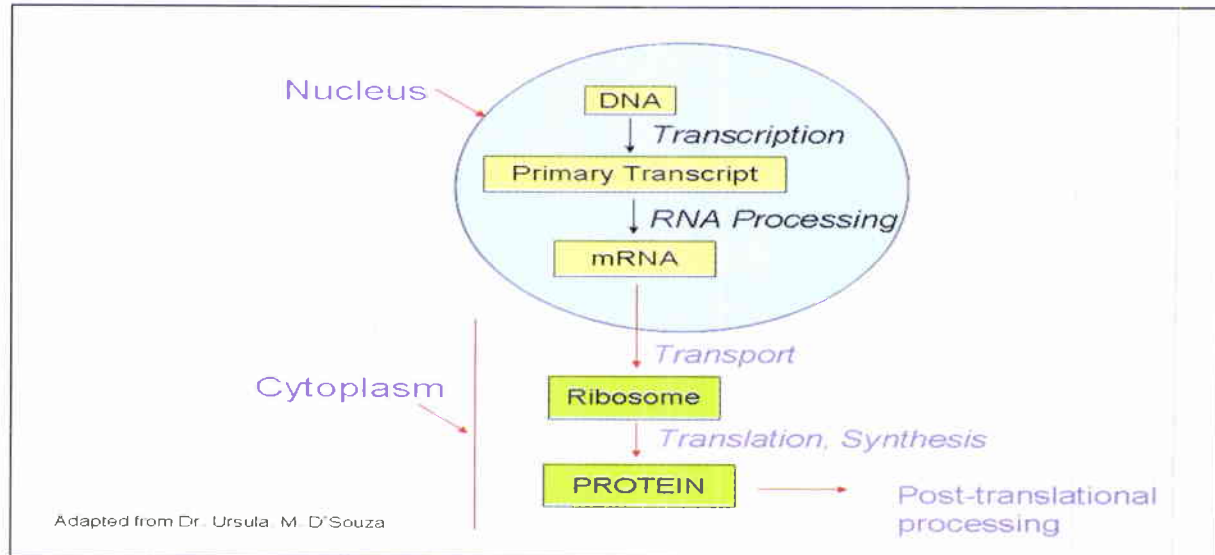
- Methods based on the detection of viral genome are commonly known as molecular methods. It is often said that molecular methods is the future direction of viral diagnosis.

PCR

- Nucleic acid detection
(Antigen detection)

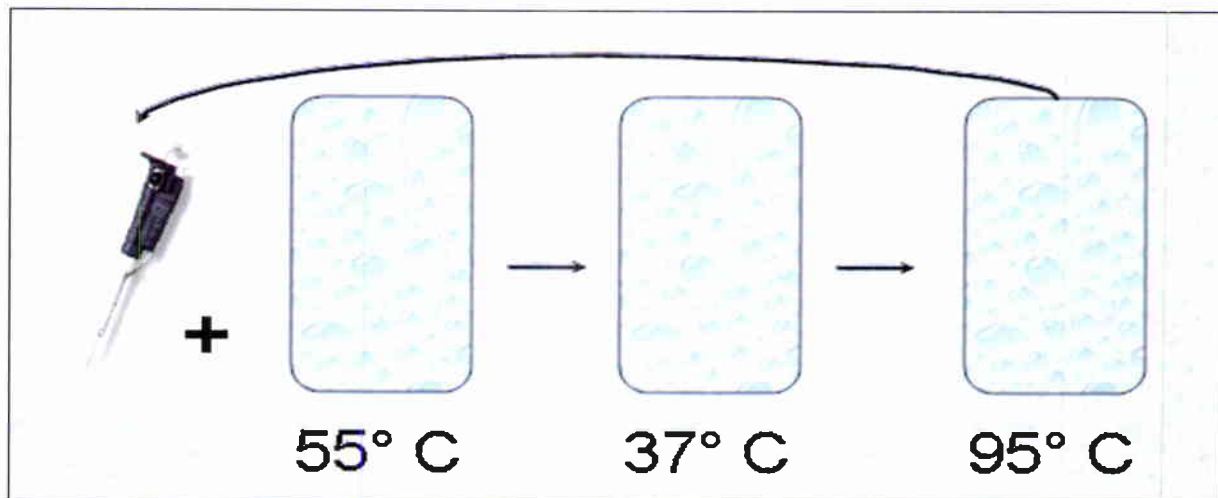


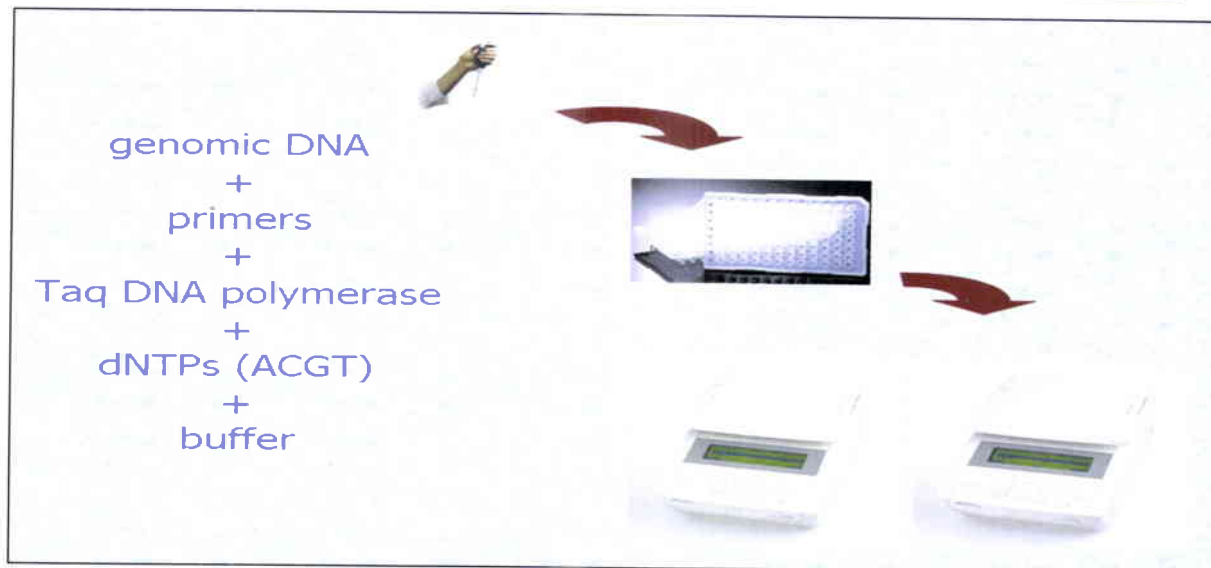
the Central Dogma of biology



The Polymerase Chain Reaction (PCR)

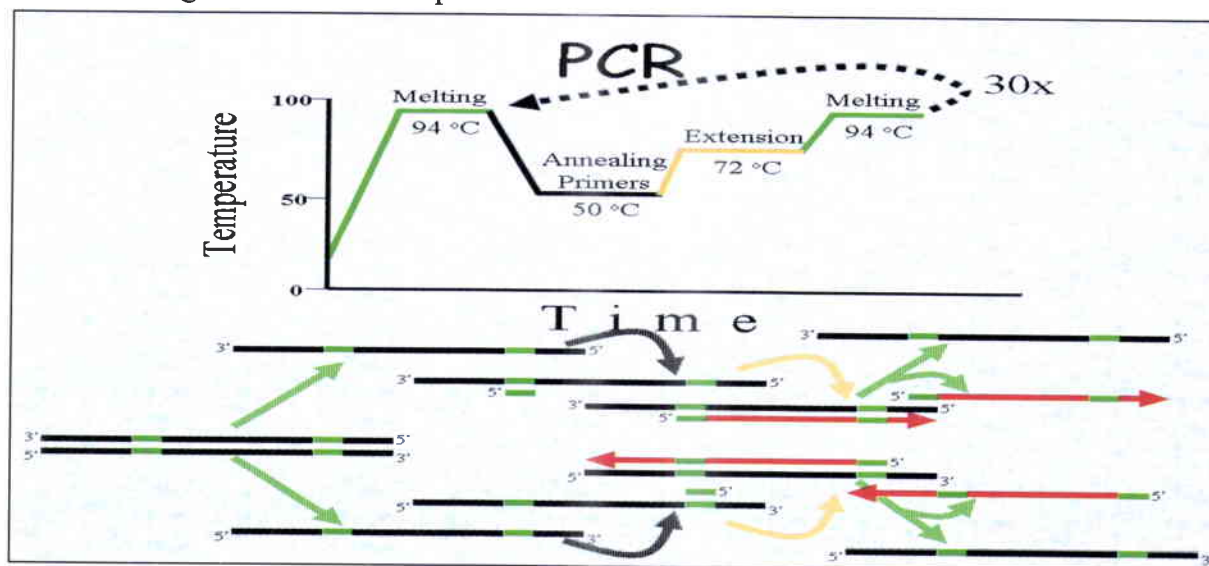
- PCR is a technique for the amplification of a small sample of DNA to an amount large enough to visualize, generally by ethidium bromide staining in agarose gel electrophoresis.
- Relies on the exponential amplification of a target sequence specifically from a complex mixture of DNA.
- Conceived of by Kary Mullis at Cetus Corporation (1985). Won the Nobel Prize in Chemistry.
- Extraordinarily powerful and versatile technique.
- The early original "PCR" device was a series of water baths at different temperatures. A rack of tubes was manually moved from one bath to the next, and after each cycle, fresh enzyme had to be added.

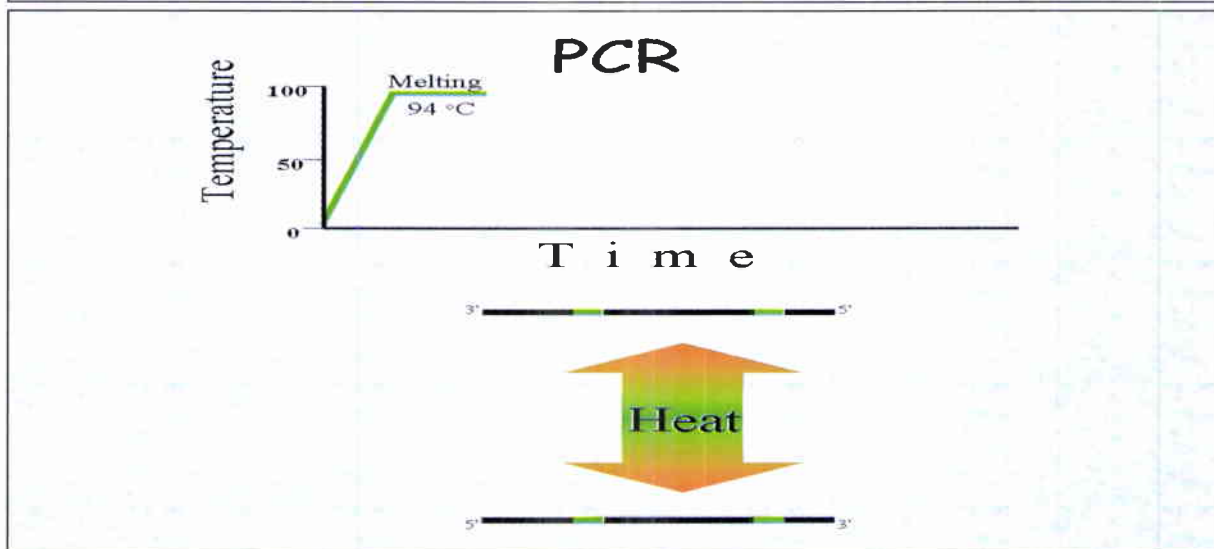
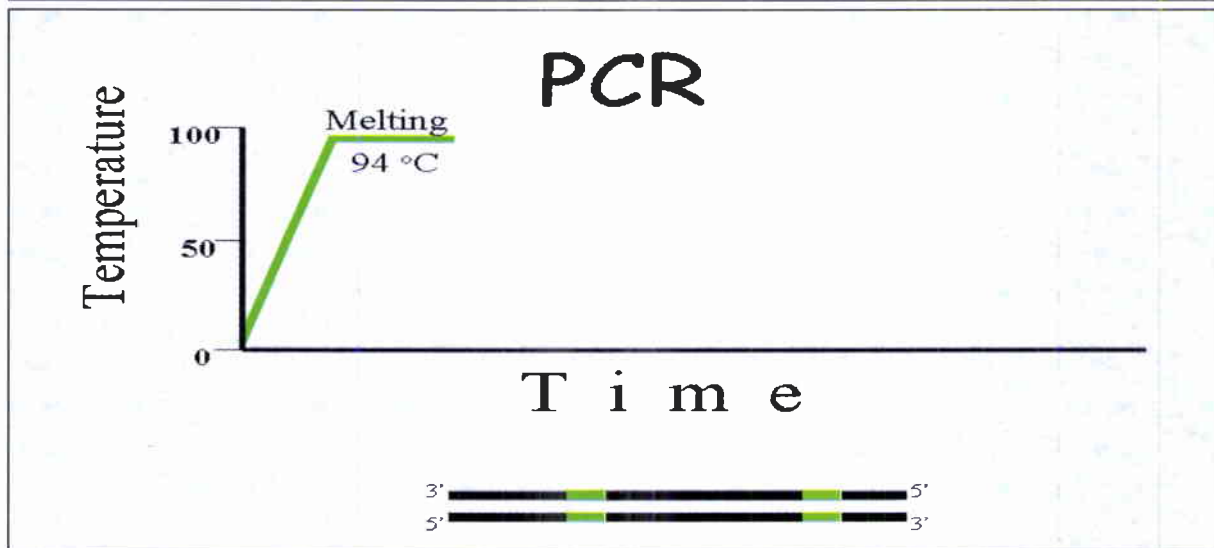
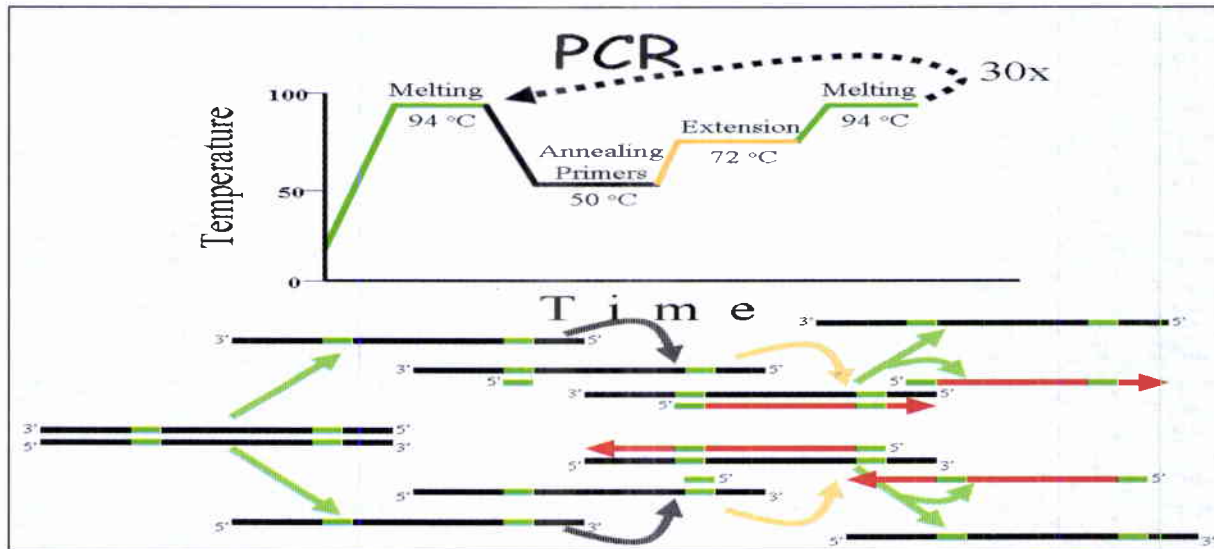


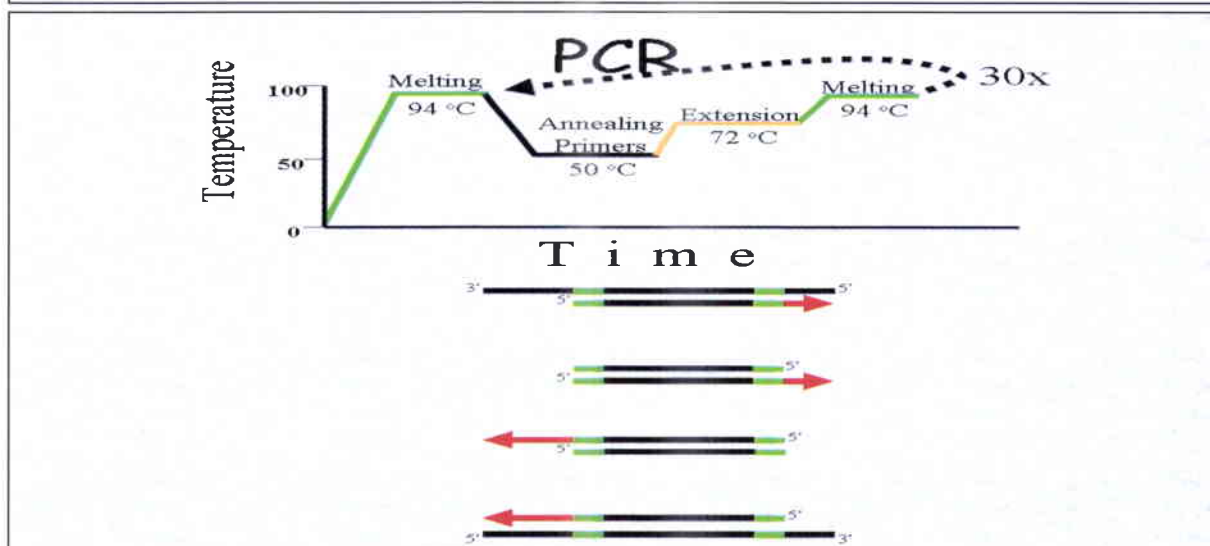
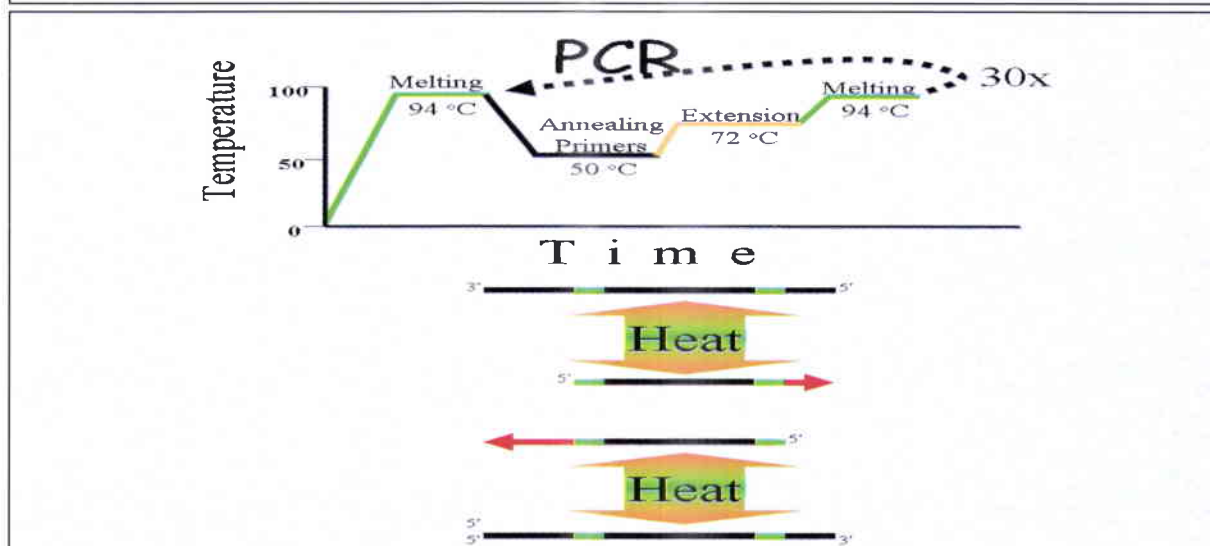
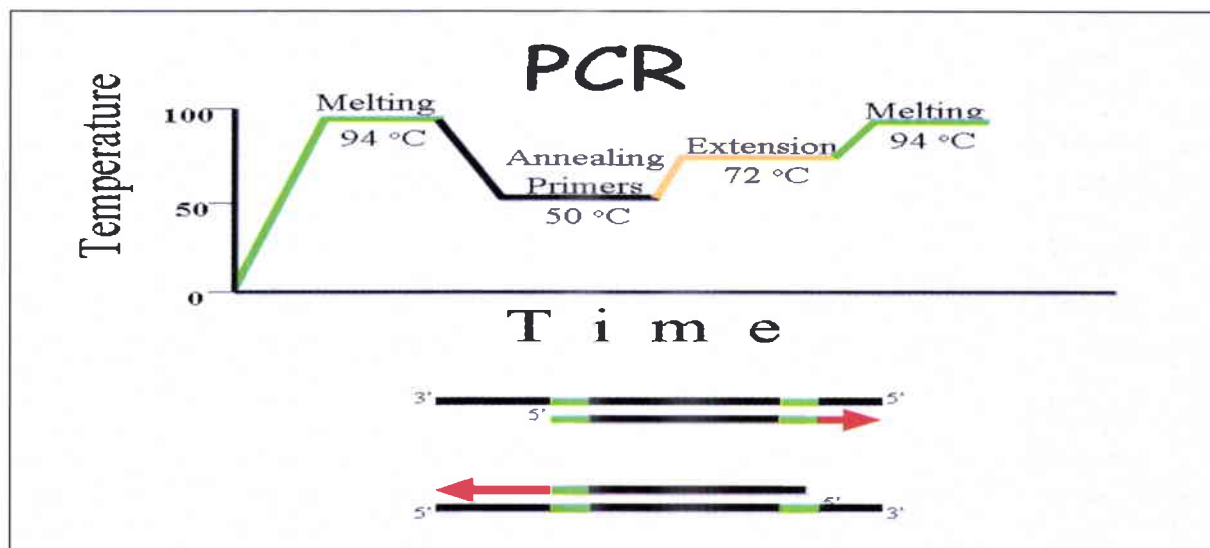


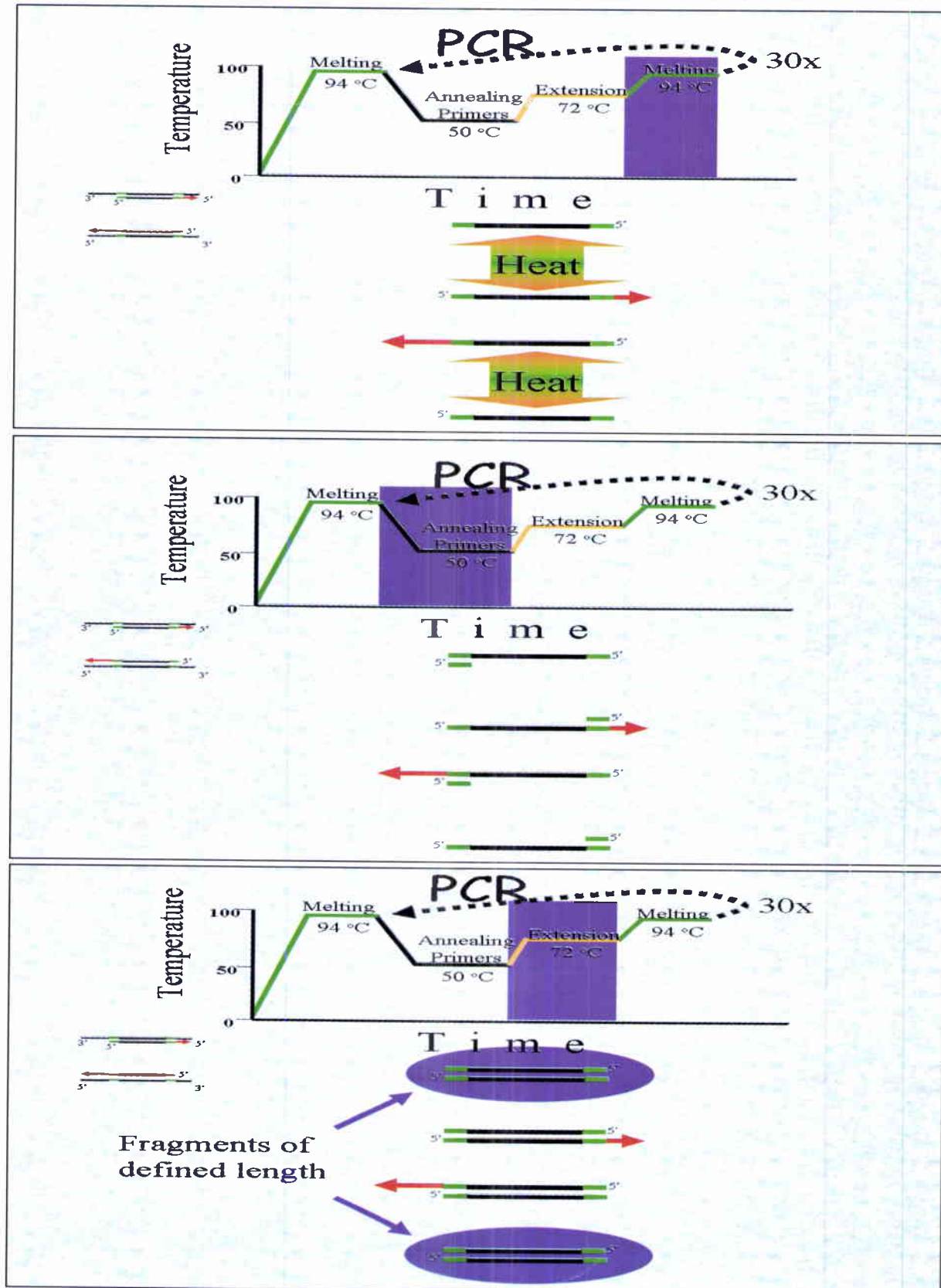
Components of PCR

- Primers: A pair of short single-stranded oligonucleotides that are identical to the 5'-ends of the sense and antisense strands that will be amplified.
- Taq DNA polymerase. Taq is a DNA polymerase that was isolated from the bacterium *Thermus aquaticus*, which normally lives in hot springs in temperatures close to 100° C. The enzymes from this beast, including Taq, have evolved to be stable at high temperatures, which means the enzyme is stable under the extreme temperature conditions of PCR.
- Template DNA: This is the DNA from which you amplify your fragment of interest. It can be from any source, including ancient DNA from fossils!
- dNTPs: Just like in all other DNA sequencing reactions, the nucleotide building blocks must be present.

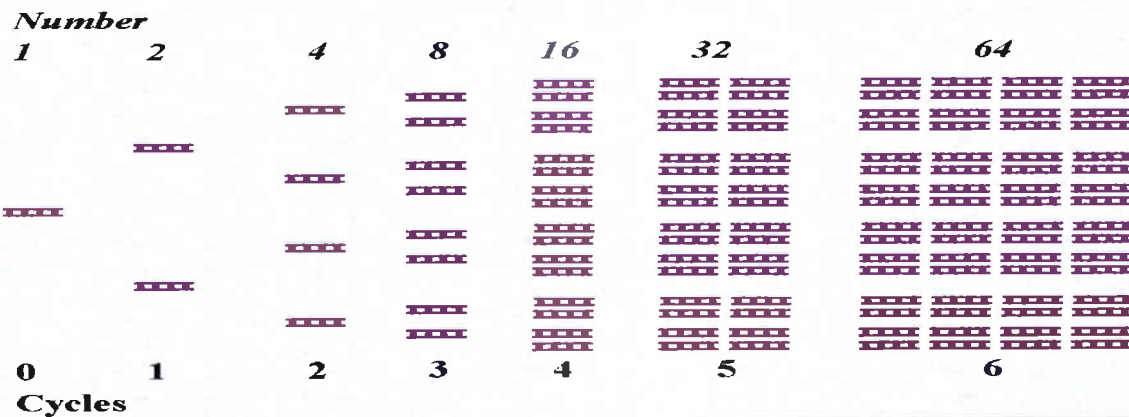




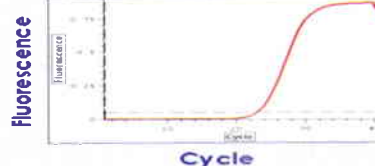
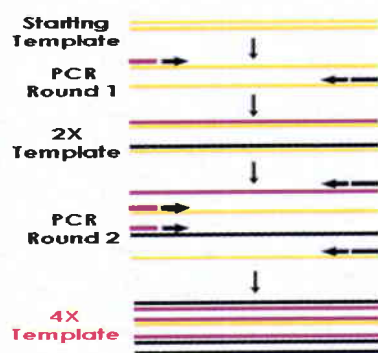




DNA Between The Primers Doubles With Each Thermal Cycle



Real-Time qPCR vs. Traditional PCR



Real-time analysis
Detection and constant monitoring of amplification products is possible during the entire run. Analysis and quantification can be made in the logarithmic phase of the reaction rather than at the end of the reaction.



End-point analysis
Agarose gel for product detection

30-40 more cycles

Genotyping step 2: electrophoresis Detect length differences

Agarose or polyacrylamide slab gel



REAL TIME PCR



Real-Time PCR

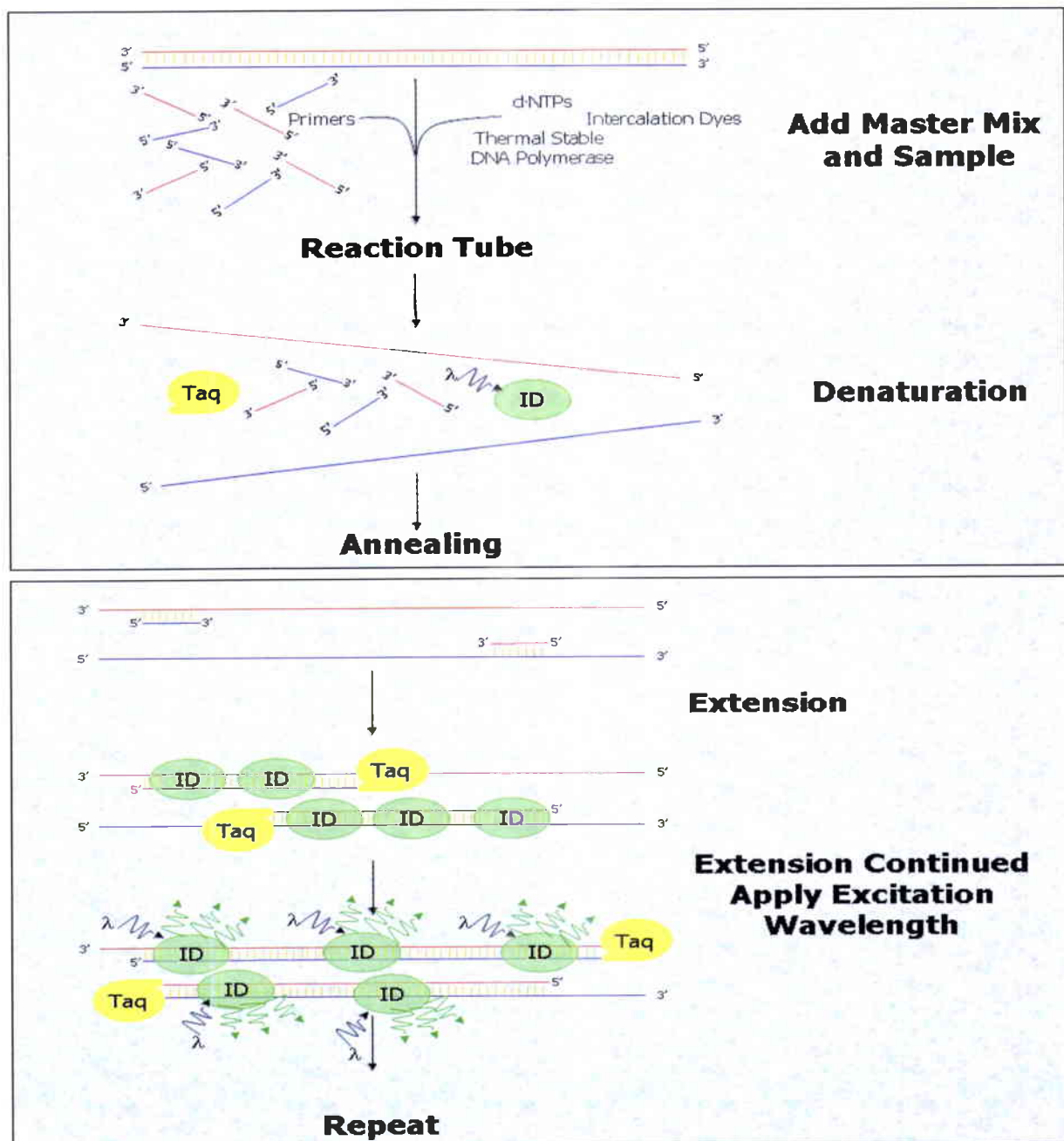
- A PCR-based method to measure the number of copies of a particular DNA fragment in a given sample
- Amplification products are labeled by a DNA binding dye or probe chemistry that emit fluorescent signal when excited.
- The signal strength of the emitted light is directly proportional to the amount of PCR product in the reaction
- The fluorescence intensity is detected and recorded every cycle
DNA amplification is monitored as the reaction occurs

How can we perform Real Time PCR?

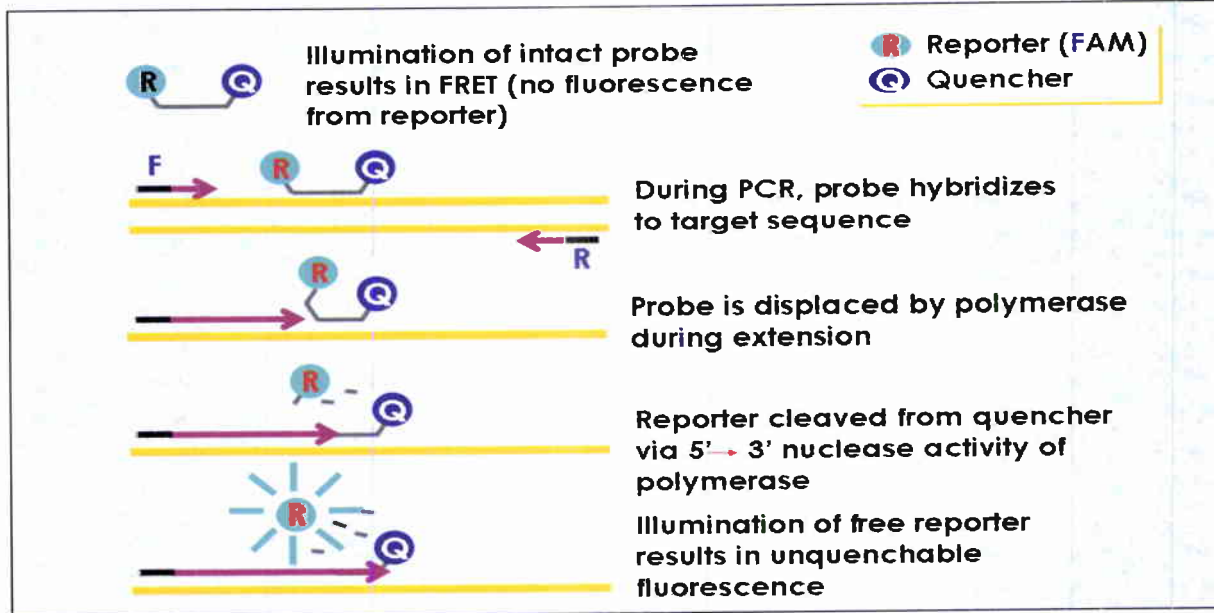
What Chemistry can we use?

Intercalating Dyes

- Russ Higuchi demonstrated the key principle of Real Time PCR using Ethidium Bromide
- EtBr fluoresces 25 times more brightly when bound to dsDNA
- SYBR Green, a more sensitive intercalating dye is an even more attractive approach
- SYBR Green fluoresces 200 times more brightly when bound to dsDNA

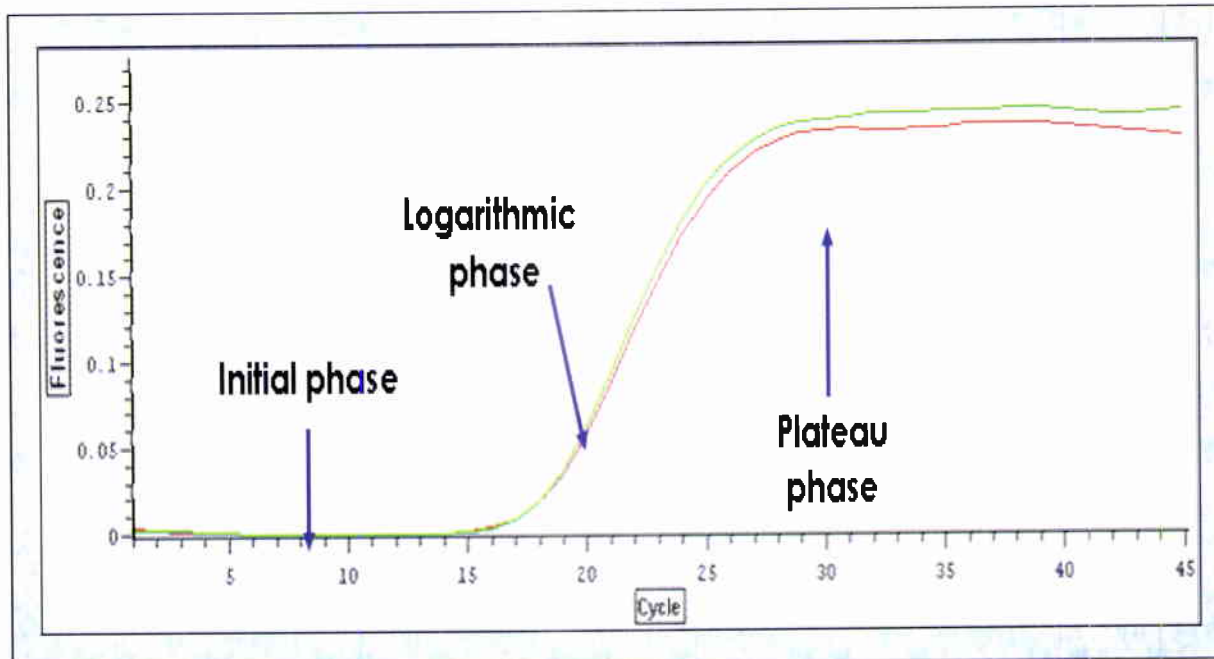


TaqMan Chemistry During PCR



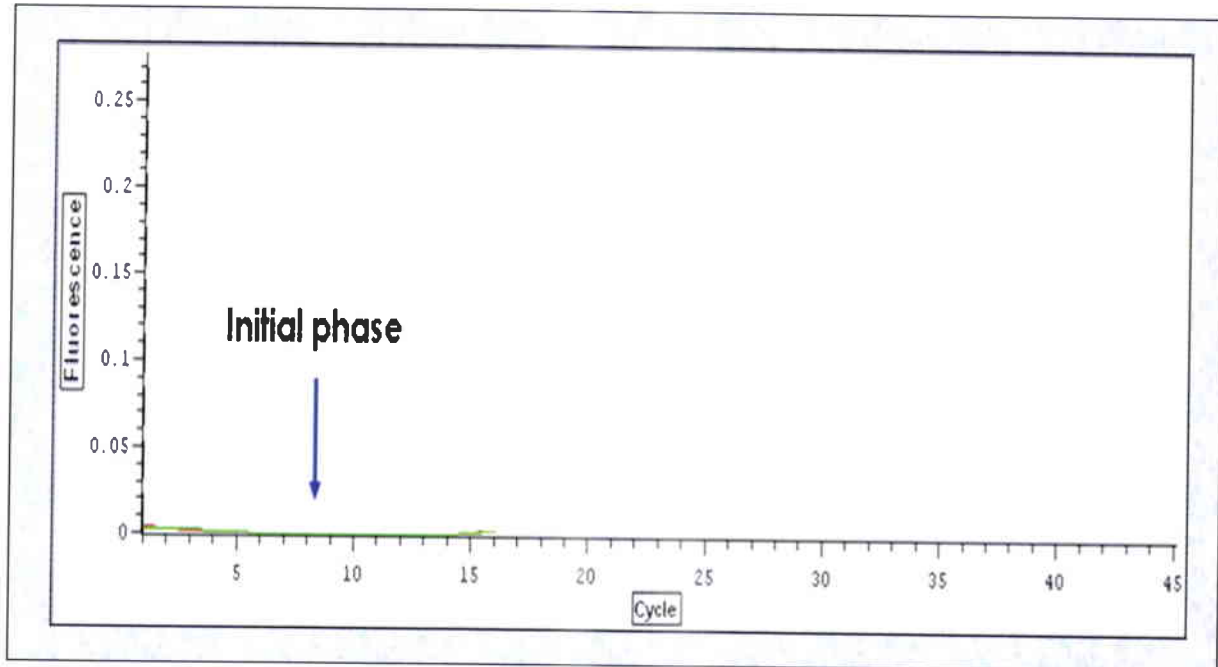
Fluorescence Curve

- As in traditional PCR, amplification during real-time qPCR occurs in distinct stages:
 - Initial
 - Logarithmic
 - Plateau



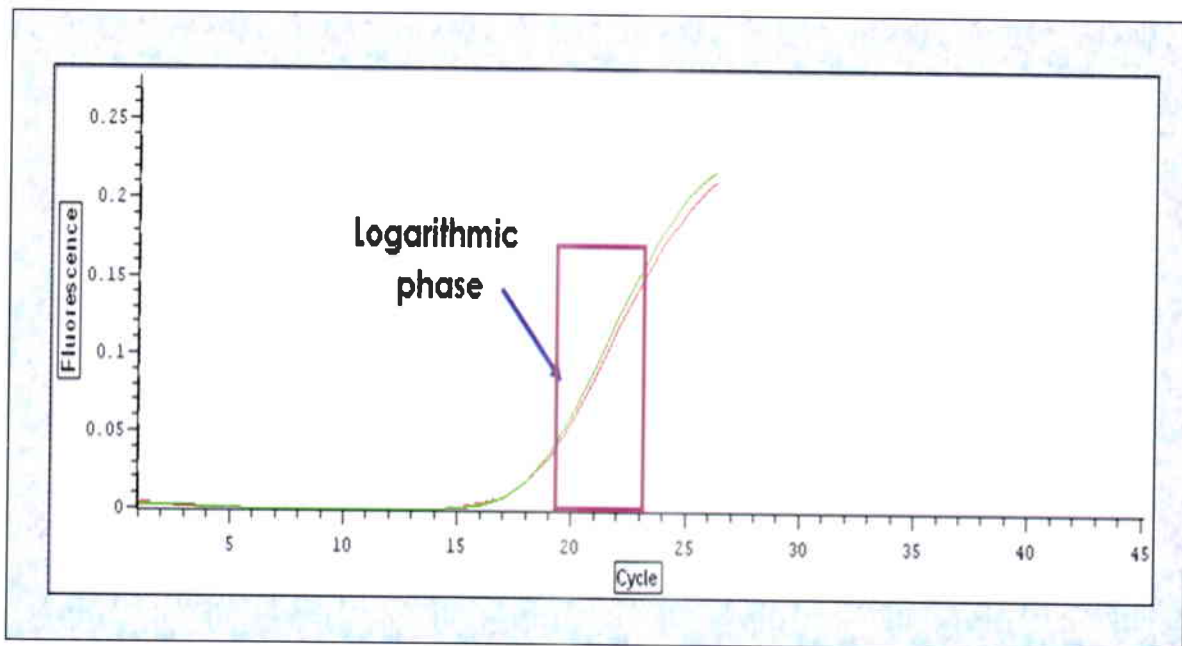
Fluorescence Curve: Initial Phase

- Product is generated but fluorescence remains at background levels



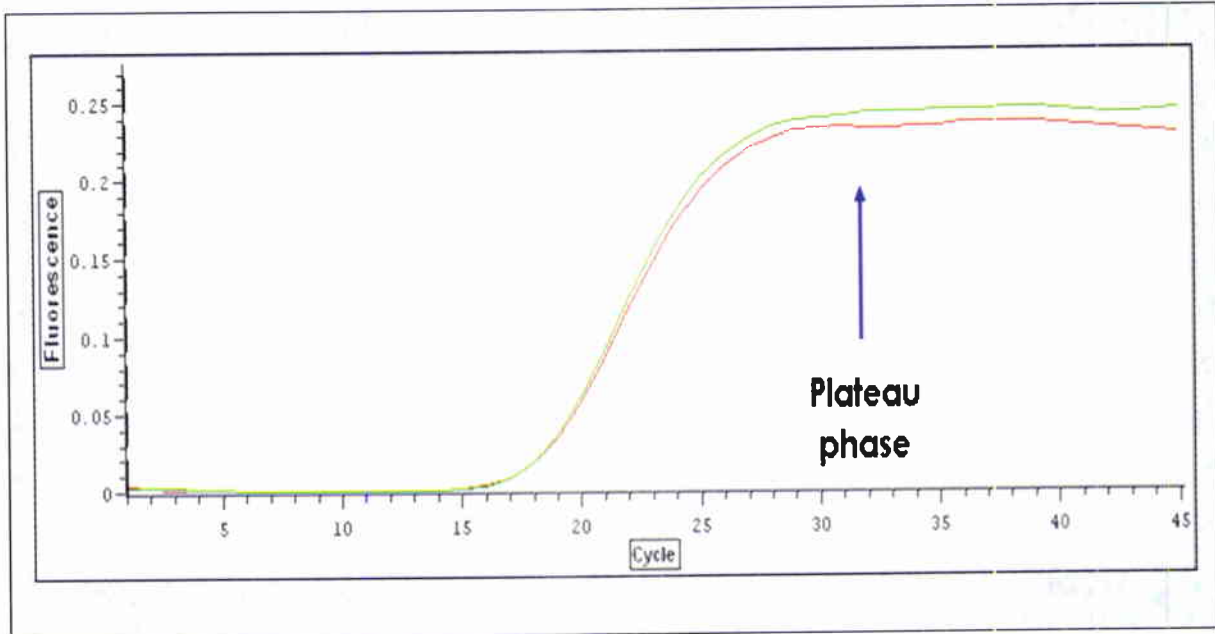
Fluorescence Curve: Logarithmic Phase

- Fluorescence rises above background levels during exponential accumulation of product
- Fluorescence increases in direct proportion to the amount of amplified product present



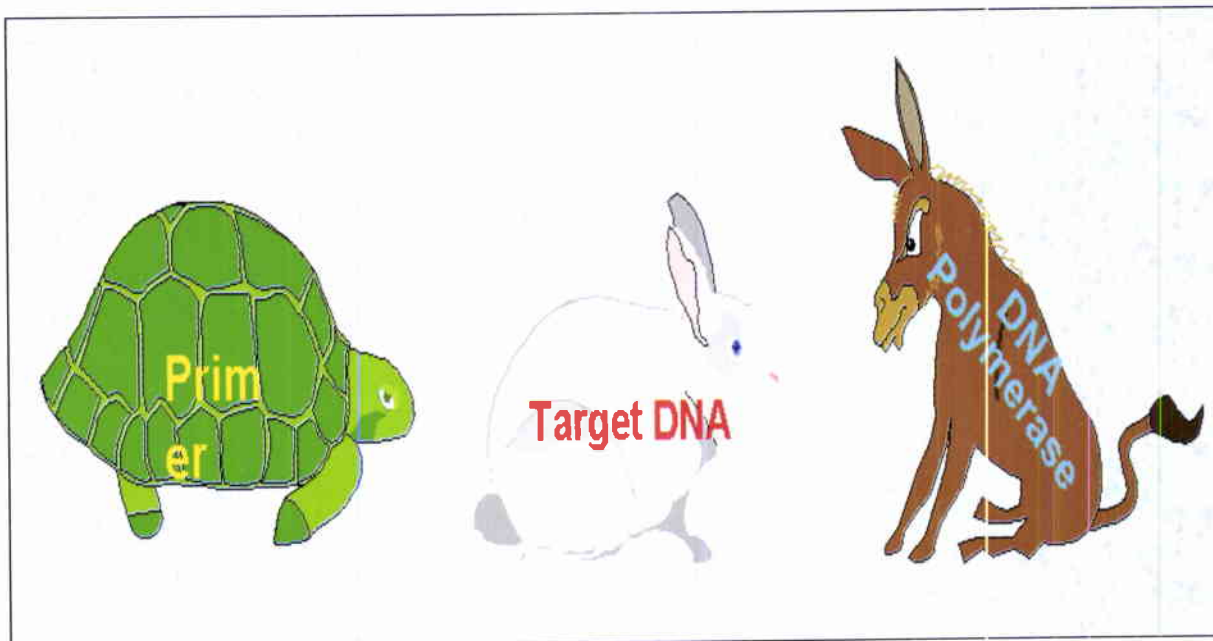
Fluorescence Curve: Plateau Phase

- No significant increase in DNA quantity or fluorescence due to the fact that one or more of the reaction components has been depleted

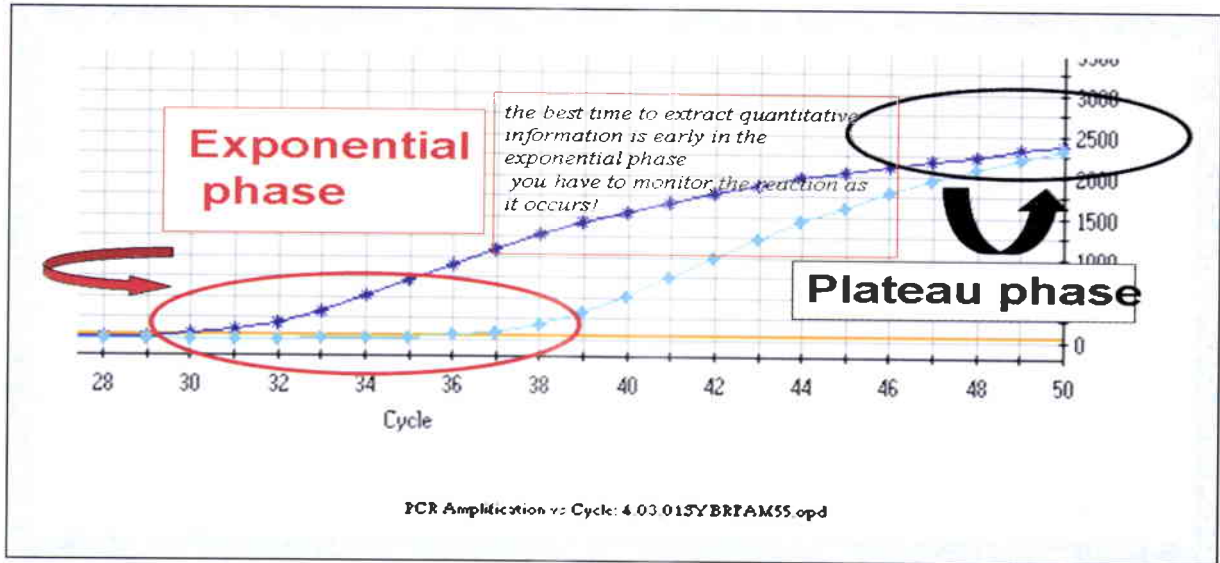


PCR Amplification Real Life

- Efficiency is not 100%
- Enzyme gets tired
- Primers lose the race to template



PCR Amplification Curve



Melt Curve

What is it?

- Melt Curve refers to programming a slow change in temperature so that you may determine the temperature at which the DNA helix separates into two strands - or “melts” apart.
- This temperature is referred to as the “T_m” or melting temperature for that piece of DNA.

Melt Curve

How do you make it happen?

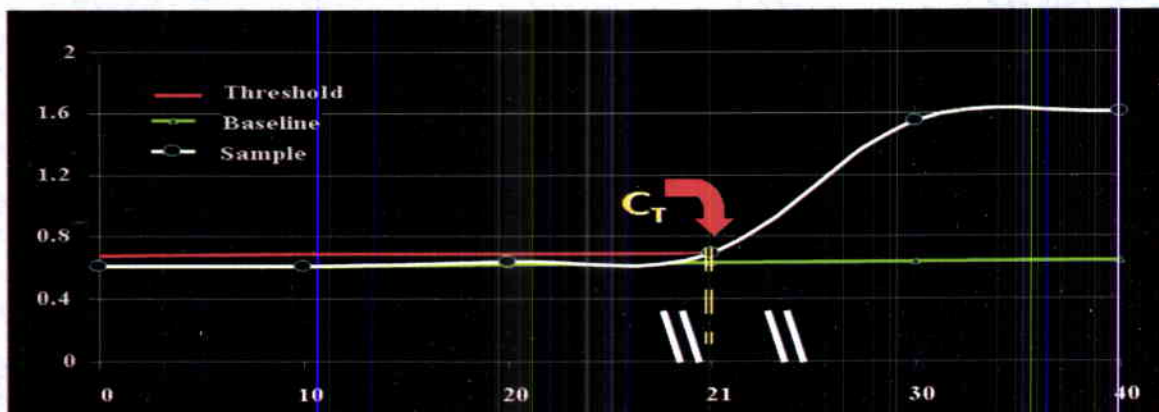
- The most common way to program a melting curve is to slowly increase the temperature (by 0.5 degree or less) per repeat.

Cycle	Repeats	Step	Dwell Time	Hold	Setpoint	Melt Curve	+ Temp	- Temp	Begin Repeat	How Often?
1	1	1	03:00		95.0					
2	50	1	00:15		95.0					
		2	00:30		60.0					
3	80	1	00:10		55.0	✓	0.5		2	1

Melt Curve

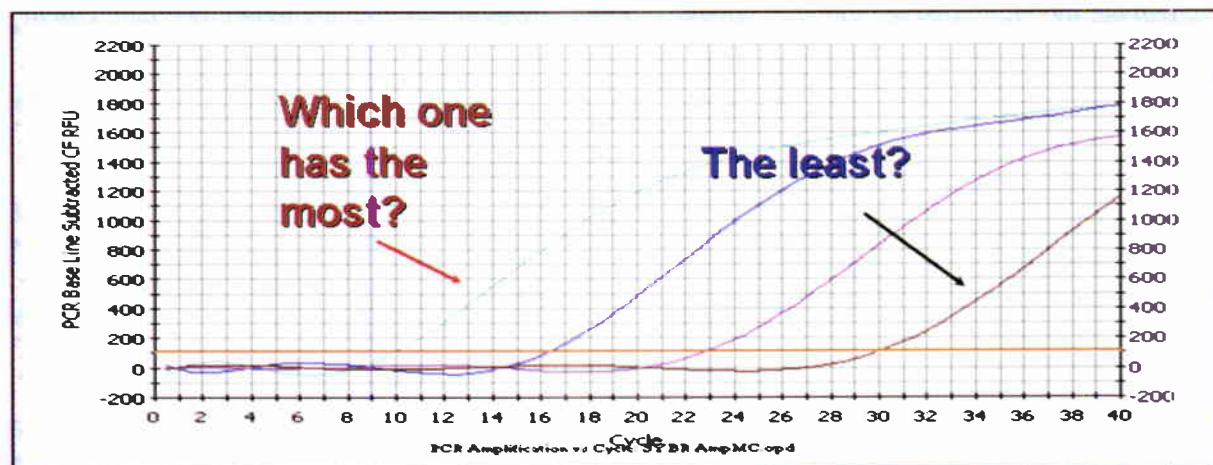
- Running a Melt Curve at the end of a Real Time PCR experiment using SYBR green allows us to check to see if there is any non-specific source of fluorescence in the PCR
 - Identify presence of Primer-Dimers
 - Identify presence of non-specific amplicon

Threshold Cycle (C_T) is the point of the amplification reaction at which the fluorescence rises significantly above the background.



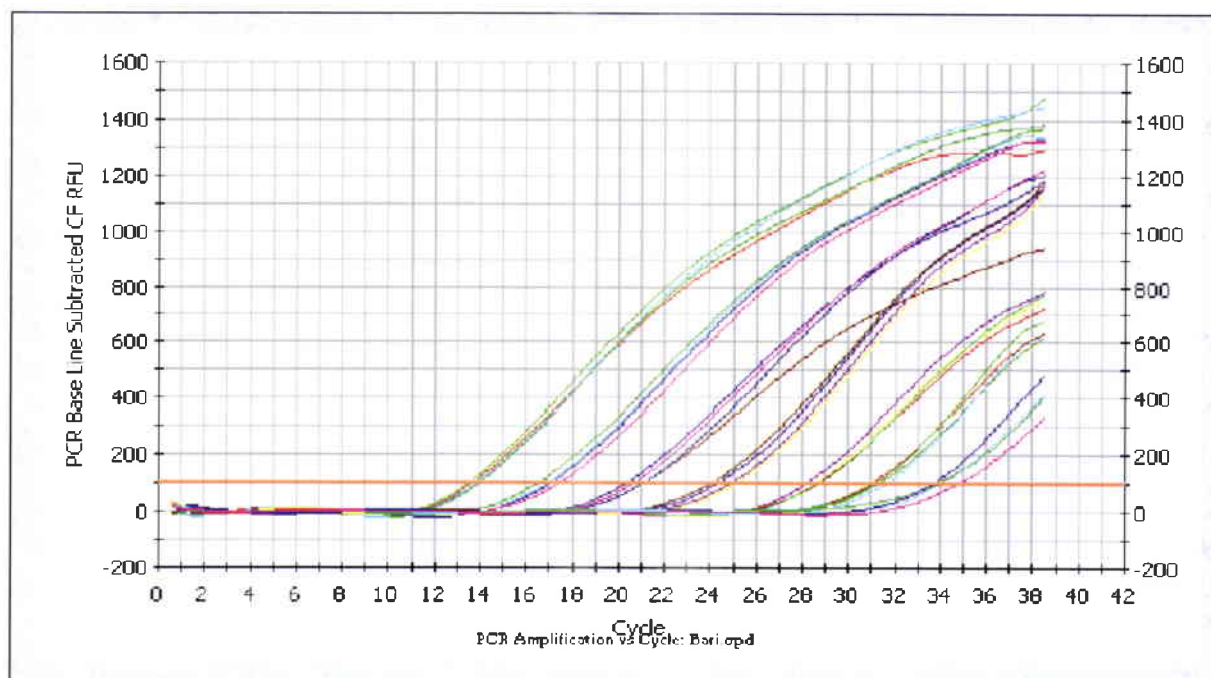
What to do with Threshold Cycle (C_T)?

- C_t is correlated to the starting amount of template
 - If you have twice the template, you get to C_t one cycle earlier
 - If you have half the template, you reach C_t one cycle later
- There is a linear relationship between the log of the starting amount of template and the corresponding threshold cycle during real-time PCR

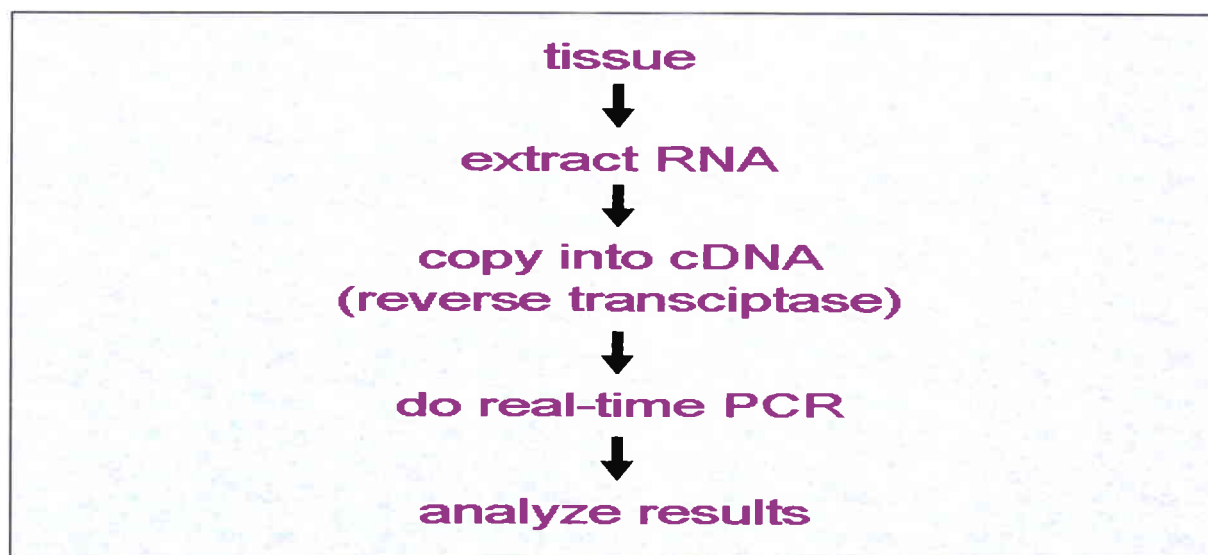


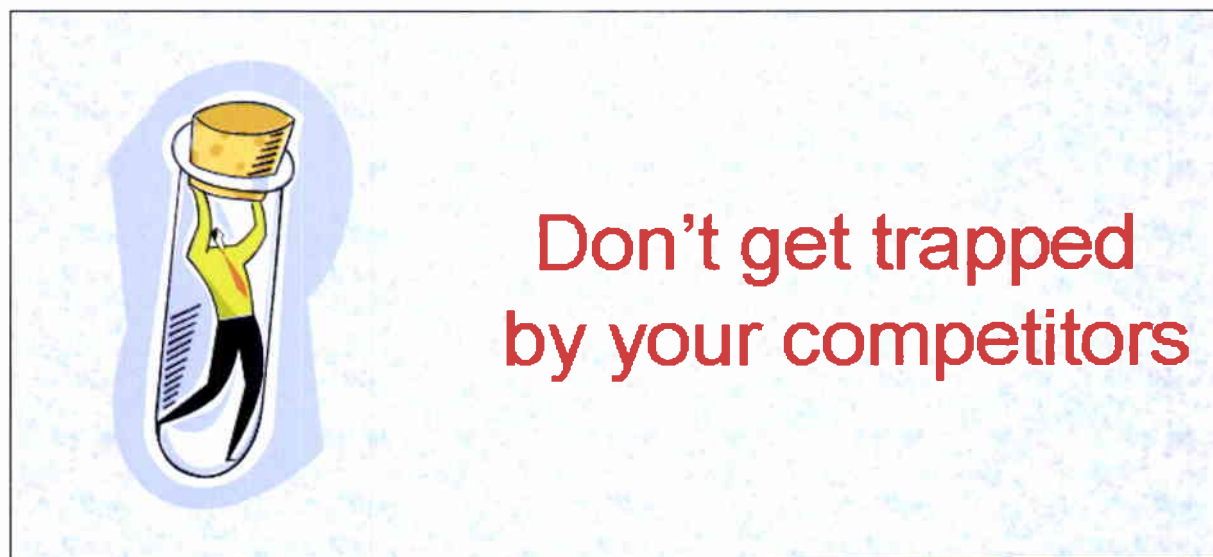
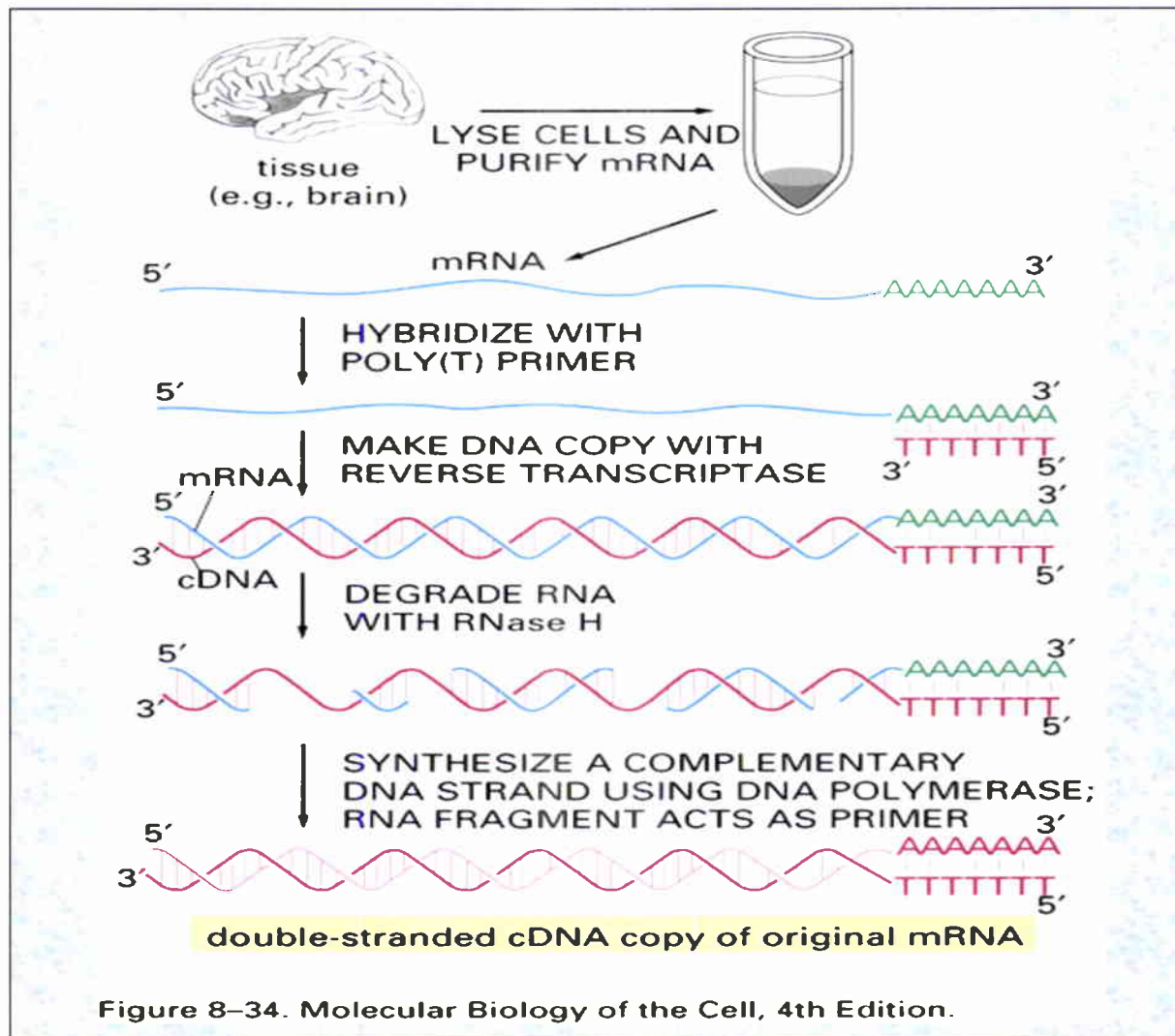
Standard Curve

- Given known starting amounts of the target nucleic acid, prepare Serial Dilutions from a known sample
- A Standard Curve can be constructed by plotting the log of starting amount versus the threshold cycle
- The Standard curve can be used to determine the starting amount for each unknown sample



OVERVIEW





Avian Influenza Food Safety Implications

**Amani Khudeir
DVM-MSc
Food Hygienist
MoA-Jordan**

Avian Influenza; Food Safety Implications

Amani Khudeir
DVM-MSc - Food Hygienist - MoA-Jordan

UN-FAO & WHO:

- Chicken and other poultry are safe to eat if cooked properly, according to a joint statement by the UN Food and Agriculture Organization (FAO) and the World Health Organization (WHO) issued to national food safety authorities.
- However, no birds from flocks with disease should enter the food chain.

FAO/WHO made the statement to clarify food safety issues in relation to the current avian influenza crisis:

- In areas where there is no avian influenza outbreak in poultry, there is no risk that consumers will be exposed to the virus via the handling or consumption of poultry or poultry products.

FAO/WHO said:

- Cooking of poultry (e.g. chicken, ducks, geese, turkeys and guinea-fowl) at or above 70°Celsius throughout the product, so that absolutely no meat remains raw and red, is a safe measure to kill the H5N1 virus in areas with outbreaks in poultry.

This ensures;

- That there is no active virus remaining if the live bird has been infected and has mistakenly entered the food chain.

To date,

- There is no epidemiological evidence that people have become infected after eating contaminated poultry meat that has been properly cooked.

Health Canada:

- Health Canada advises that poultry products and eggs from areas experiencing an outbreak of avian flu do not pose a risk to human health for avian flu.
- The virus is known to be killed at temperatures above 72°C, however, Health Canada recommends
- (cooking whole poultry to 85°C and other poultry products and eggs to 74°C to ensure microbial food safety).

Poultry:

- From the information currently available, a large number of confirmed human cases of avian influenza acquired their infection during the home slaughtering and subsequent handling of diseased or dead birds prior to cooking.
- FAO and WHO emphasize that in the process of killing and preparing a live bird for food, slaughtering poses the greatest risk of passing the virus from infected or diseased birds to humans.
- However, highly pathogenic viruses, such as the H5N1 strain, spread to virtually all parts of an infected bird, including meat.
- Proper cooking at temperatures at or above 70°C in all parts of the product will inactivate the virus.

Exposure to the virus:

- When a diseased bird is slaughtered, defeathered and eviscerated, virus from the bird can transfer to humans through direct contact.
- Infected poultry excrete virus in their secretions and faeces.
- Exposure might also occur when the virus is inhaled through dust and possibly through contact with surfaces contaminated with the virus.
- In areas where marketing of live birds is common, the practices of home slaughtering, defeathering, and eviscerating increase the exposure to potentially contaminated parts of a chicken. These practices therefore result in a significant risk of infection in areas with outbreaks in poultry.

Thus;

- Good hygienic practices during preparation and cooking poultry at temperatures of 70°C or above will further contribute to the safety of cooked poultry meat.

Eggs:

- Highly pathogenic avian influenza virus can be found inside and on the surface of eggs laid by infected birds.
- Although sick birds will normally stop producing eggs, eggs laid in the early phase of the disease could contain viruses in the egg-white and yolk as well as on the surface of the shell.
- Proper cooking inactivates the virus present inside the eggs. Pasteurization used by industry for liquid egg products is also effective in inactivating the virus.
 - Egg white 53°C / 3-5 min
 - Whole egg and egg yolk 65 °C / 3.5 min
- Eggs from areas with outbreaks in poultry should not be consumed raw or partially cooked (i.e., with runny yolk), FAO/WHO advise.

To date,

- To date, there is no epidemiological evidence to suggest that people have been infected with avian influenza by consumption of eggs or egg products.

Recommended good hygienic practices to reduce exposure to the virus in areas with outbreaks in poultry:

- No birds from flocks with disease should enter the food chain.
- Do not eat raw poultry parts, including raw blood, or raw eggs in or from areas with outbreaks in poultry.
- Separate raw meat from cooked or ready-to-eat foods to avoid contamination.
 - Do not use the same chopping board or the same knife.
 - Do not handle both raw and cooked foods without washing your hands in between and do not place cooked meat back on the same plate or surface it was on prior to cooking.
 - Do not use raw or soft-boiled eggs in food preparations that will not be heat treated or cooked.
- Keep clean and wash your hands.
- After handling frozen or thawed raw poultry or eggs, wash your hands thoroughly with soap.
- Wash and disinfect all surfaces and utensils that have been in contact with the raw meat.
- Cook thoroughly:
 - Thorough cooking of poultry meat will inactivate the virus.
 - Either ensure that the poultry meat reaches 70°C at the centre of the product (“piping” hot); or
 - that the meat is not pink in any part.
 - Egg yolks should not be runny or liquid.

تقييم خطورة انتقال مرض أنفلونزا الطيور للإنسان

د. لبيب الشريف
أستاذ مشارك في علم الأوبئة
جامعة العلوم والتكنولوجيا الأردنية

تقييم خطورة انتقال مرض أنفلونزا الطيور للإنسان

د. لبيب الشريف

أستاذ مشارك في علم الأوبئة

جامعة العلوم والتكنولوجيا الأردنية

انتشار أنفلونزا الطيور H5N1 في العالم:

سجل مرض أنفلونزا الطيور في أكثر من 11 دولة آسيوية وحديثاً سجل في عدة دول أوروبية، إن احتمال انتقال مرض أنفلونزا الطيور لدول أخرى في أوروبا والشرق الأوسط وارد جداً خلال الأشهر بل ربما الأسابيع القادمة ولكن هذا يجب ألا يصرف المجتمع الدولي عن التركيز على مصدر وأساس المشكلة وهي الدول الآسيوية (شرق آسيا)، وسجل المرض في 132 شخصاً كانوا على تماس مباشر مع دواجن مصابة ونسبة وفيات حوالي 50 % حتى 2005/11/24.

شروط تحول أنفلونزا الطيور إلى وباء عالمي في الإنسان:

- حصول طفرة في الفيروس حتى يتحول إلى فيروس جديد قادر على إصابة الإنسان (هذا الشيء ممكن لكنه يحتاج إلى وقت طويل نسبياً ربما عدة سنوات)
- عدم وجود مناعة أو مستوى المناعة ضعيف عند السكان ضد فيروس الأنفلونزا الجديد (هذا فعلاً واقع السكان العالمي)
- قدرة هذا الفيروس الجديد على الانتقال بين الناس بسهولة (الفيروس الحالي H5N1 غير قادر على الانتقال بين الناس).

خطورة انتقال فيروس أنفلونزا الطيور H5 N1 للإنسان :

في الظروف العادية إن فيروس أنفلونزا الطيور لا ينتقل بصورة طبيعية من الطيور للإنسان، كما إن الخطورة تكمن بأن تتمكن عترة فيروس أنفلونزا الطيور H5N1 من الاندماج مع فيروس أنفلونزا الإنسان وبالتالي يكون قادراً على إصابة الإنسان أو الاستمرار في حصول تغيرات جينية بحيث يصبح هذا الفيروس قادراً على الانتقال من إنسان لإنسان، وانتقال الفيروس من الطيور إلى الخنزير و من ثم ظهور فيروس جديد قادر على الإصابة و الانتشار في الإنسان.

إن خطورة انتقال فيروس H5N1 إلى الإنسان ضعيفة جداً إلا أن الاستعداد لهذا الخطر المحتمل يجب أن يتخذ من كافة دول العالم، وأحب أن أؤكد بأنه لا توجد خطورة من تناول لحوم الدواجن المطبوخة. كما إن المبالغة في تخويف الناس من خطر انتقال المرض للإنسان سيؤدي إلى نتائج اقتصادية ونفسية واجتماعية سلبية على المجتمع، ولذلك يجب ألا نبالغ في تقدير مخاطر المرض بحجة المحافظة على صحة الإنسان. ويجب أن تقيم مخاطر هذا المرض من قبل الاختصاصيين في علم الأوبئة والفيروسات والصحة العامة وأمراض الدواجن وغيرها من العلوم ذات العلاقة. إن خسائر دول جنوب شرق آسيا من مرض أنفلونزا الطيور في حدود 15 بليون دولار أمريكي وأحب أن أذكر بأن عدد الحالات في العالم كان 121

حالة فقط توفي نصفهم تقريباً حسب الجدول المرفق. وأحب أن أنوه بأن منظمة الصحة العالمية تسير باتجاه عدم المبالغة في التحذير كما صرح حديثاً الدكتور مايكل ريان مدير الأوبئة العالمية بالعبارة التالية :
"إنني أؤكد بأن احتمالية انتقال المرض من الطيور للإنسان ضعيفة و أدعو إلى الهدوء".

حقائق عن إصابات الإنسان بأنفلونزا الطيور:

1. في عام 1997 سجلت أول حالة للإصابة بأنفلونزا الطيور نوع H5N1 في الإنسان في هونغ كونج.
2. في عام 1998-1999 سجلت عدة حالات إصابة بنوع H9N2 في الصين ولكن إصابات خفيفة.
3. في عام 2002 سجلت حالة وجود أجسام مناعية في شخص ضد نوع H7N2 في فيتنام.
4. في عام 2003 سجلت 89 حالة إصابة بنوع H7N2 في هولندا.

مجموع حالات إصابة الإنسان بأنفلونزا الطيور بالعالم حتى تاريخ 2005/10/24 كالتالي :

أسم الدولة	عدد الحالات	عدد الوفيات
إندونيسيا	7	4
فيتنام	91	41
تايلندا	19	13
كامبوديا	4	4
المجموع	121	62

Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO 24 November 2005

Date of onset	Indonesia		Viet Nam		Thailand		Cambodia		China		Total	
	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths	cases	deaths
26.12.03-10.03.04	0	0	23	16	12	8	0	0	0	0	35	24
19.07.04-08.10.04	0	0	4	4	5	4	0	0	0	0	9	8
16.12.04-to date	11	7	66	22	4	1	4	4	3	2	88	36
Total	11	7	93	42	21	13	4	4	3	2	132	68

خطة وزارة الزراعة لمواجهة مرض أنفلونزا الطيور والإمكانات المتوفرة

الدكتور فارس البخيت
مدير مديرية البيطرة
وزارة الزراعة

خطة وزارة الزراعة

لمواجهة مرض أنفلونزا الطيور والإمكانات المتوفرة

الدكتور فارس البخيت

مدير مديرية البيطرة - وزارة الزراعة

الهيكل التنظيمي:



إمكانات وزارة الزراعة:

■ إمكانات جغرافية:

➤ الانتشار والوصول :

- مديريات الزراعة - أقسام الثروة الحيوانية - المختبرات الفرعية.

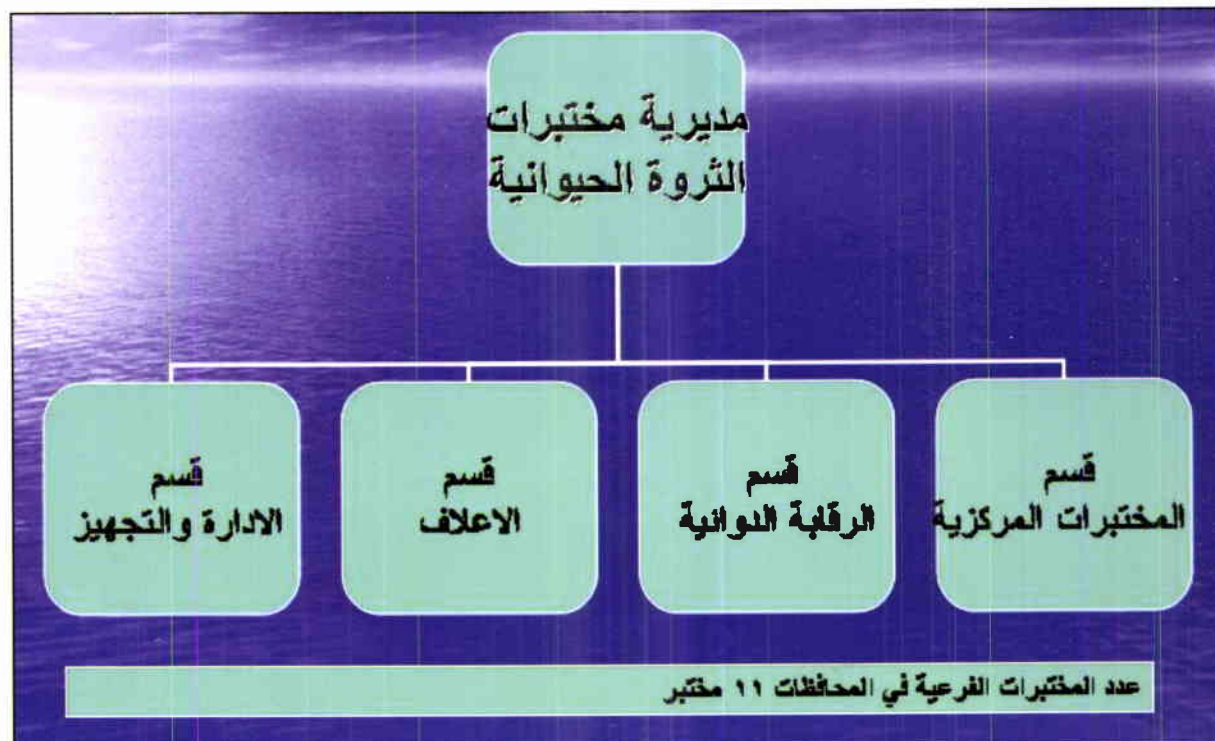
➤ إمكانات بشرية:

- أطباء بيطريون مؤهلون ، مهندسون زراعيون ، كواادر فنية، ممرضون بيطريون، إداريون وسائقون.

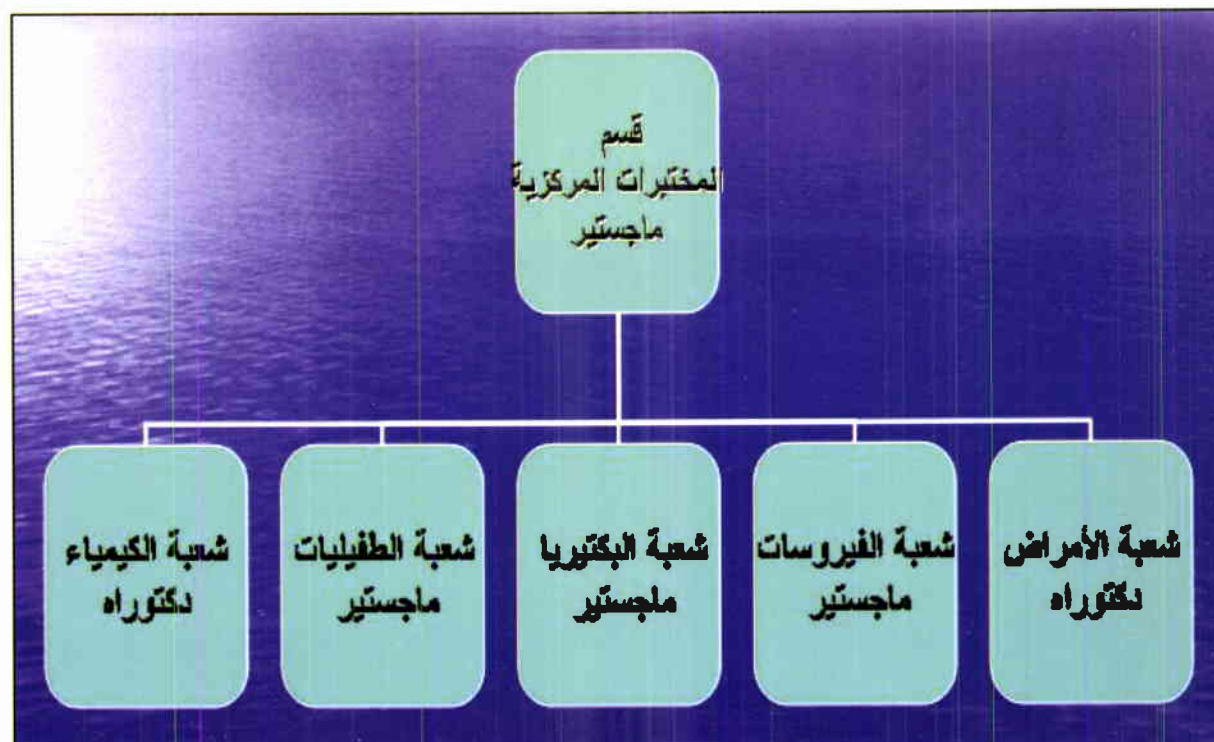
➤ إمكانات مادية وإدارية:

- أليات، أجهزة، مواد بيولوجية، قوانين و أنظمة.

هيكل تنظيمي - مديرية مختبرات الثروة الحيوانية:



هيكل تنظيمي - قسم المختبرات المركزية:



الرصد المبكر لمرض أنفلونزا الطيور:

- متابعة مزارع الدواجن
- متابعة الطيور المهاجرة
- متابعة الطيور المستوردة و منتجاتها
- متابعة الوضع الصحي عالميًا
- تشديد الرقابة على محلات بيع طيور الزينة وحدائق الحيوانات

الوضع الحالي

- تم التعامل مع أكثر من 200 حالة مختلفة.
- علامات عصبية و التهاب أمعاء.
- تم عزل فيروس النيوكاسل.
- تم تشخيص طفيليات داخلية كوكسديا و تراكيموناس



الإدارية:

- إنشاء غرفة عمليات .
- تدريب المعنيين في مجال الدواجن للتعامل مع الحالات حال حدوثها .
- تزويد الأطباء البيطريين و المهندسين الزراعيين و الفنيين بالمعدات اللازمة للتعامل مع الحالات حال حدوثها
- تأمين الأطباء البيطريين و الفنيين و العاملين في هذا القطاع بمطعوم الأنفلونزا
- الاتصال الدائم مع دول الجوار.
- إيجاد آلية لتوفير اللقاحات الضرورية في حال ظهور أي إصابات.

الإعلام و الإرشاد:

- رسائل إرشادية عبر الصحافة .
- رسائل إرشادية عبر الإذاعة و التلفزيون .
- عمل بروشور توعية وتوزيعه على المعنيين .
- تعيين ناطق إعلامي وحيد في الوزارة للإعلان عن الوضع في الأردن .

مرحلة وقوع المرض:

- عزل المناطق المصابة ومنع حركة الطيور والآليات والمعدات والعاملين فيها .
- التخلص الصحي من القطعان المصابة و كامل الفضلات .
- إجراء عمليات التعقيم والتطهير في المزارع المصابة و حولها .
- تحصين المزارع حول المنطقة المصابة .
- حصر العاملين في المزارع المصابة .
- الاستعانة بالجهات الدولية .

استنتاجات و توصيات:

الاستنتاجات:

- حتى هذه اللحظة المملكة الأردنية خالية من فيروسات الأنفلونزا H5 و H7.
- لدى وزارة الزراعة الإمكانيات الكاملة في الوصول إلى أي حالة مشتبه بها في المملكة و التعامل معها و عزل الفيروس و تشخيصه.
- تم الاتفاق مع مختبرات عالمية لإرسال أي فيروسات مشتبه بها لتأكيد التشخيص.
- التعاون مهم و مطلوب مع الدول العربية.

توصيات:

- مراقبة قطعان الدواجن باستمرار و احضار عينات للفحص.
- متابعة الطيور المهاجرة و البرية مع الجهات المختصة.
- التبليغ عن أي حالة مشتبه بها.
- التبليغ عن أي طيور غريبة في المنطقة وعدم الاقتراب منها.
- للإبلاغ عن أي حالات الاتصال بوزارة الزراعة: 065686151 أو بمديرية المختبرات : 064771111

التشخيص المخبري لمرض أنفلونزا الطيور

الدكتور هشام المعاينة
رئيس قسم المختبرات المركزية
مديرية مختبرات الثروة الحيوانية
وزارة الزراعة

التشخيص المخبري لمرض أنفلونزا الطيور

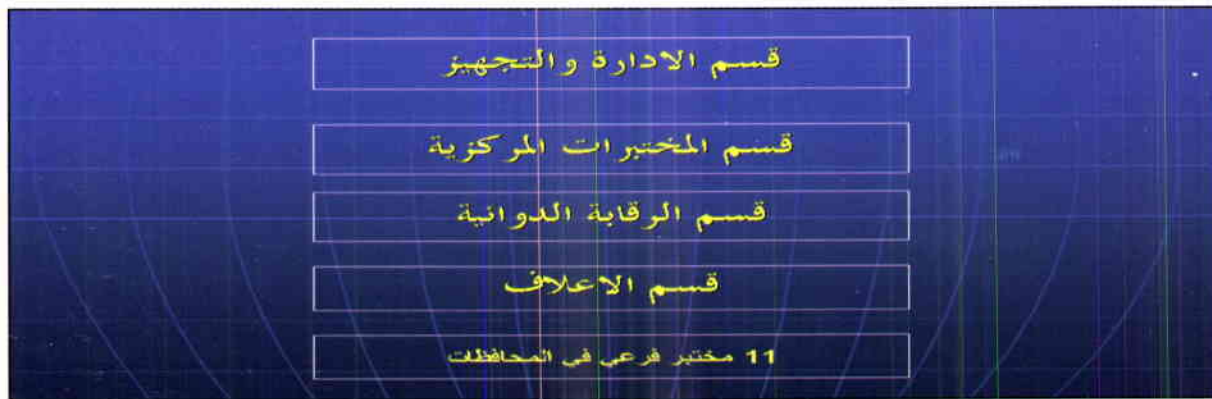
الدكتور هشام المعاينة

رئيس قسم المختبرات المركزية

مديرية مختبرات الثروة الحيوانية - وزارة الزراعة

hmaaitah@yahoo.com

الهيكل التنظيمي لمديرية مختبرات الثروة الحيوانية:



الهيكل التنظيمي لقسم المختبرات المركزية:



آلية العمل المتبعة في قسم المختبرات:

■ شعبة الأمراض الحيوانية:

- استقبال العينات المرضية وتسجيلها.

■ شعبة الفيروسات:

- تجهيز العينة.

- إجراء الفحوصات اللازمة عليها.

■ العينات المرضية:

- 5 طيور حية أو ميتة حديثاً
- أحشاء داخلية: رئات، قصبات، أمعاء، كبد ، طحال، دماغ.
- مسحات من القصبات و/أو فتحة المجمع.

■ شعبة الفيروسات:

- تحضير العينات للفحص:

1. أنسجة: يتم تقطيعها وطحنها و معاملتها بالمضادات الحيوية اللازمة وتجميدها وتذويبها 3 مرات.
2. دم: يتم فصل السيرم.
3. مسحات براز و القصبات : يتم معاملتها بمحلول خاص.

- إجراء الفحوصات اللازمة عليها:

1. عزل الفيروس.
2. تحديد فيروس الأنفلونزا نوع A.
3. تحديد النمط المصلي H5, H7 and H9.
4. الكشف عن الأجسام المضادة في مصل الدم.

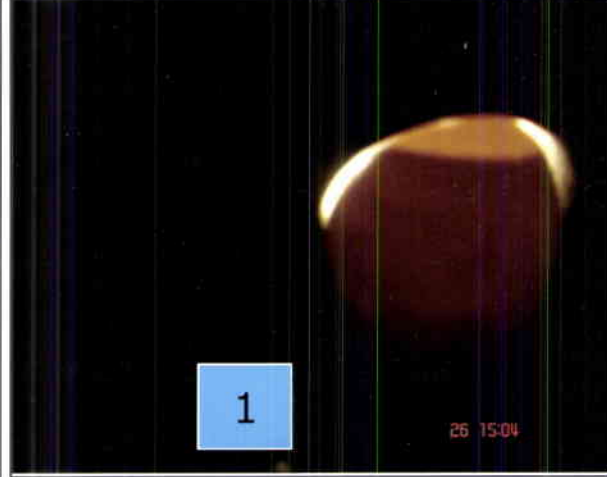
■ تحضير العينات لعزل الفيروس:

- تقطيعها و طحنها.
- عمل معلق منها.
- إضافة المضادات الحيوية.



■ عزل الفيروس:

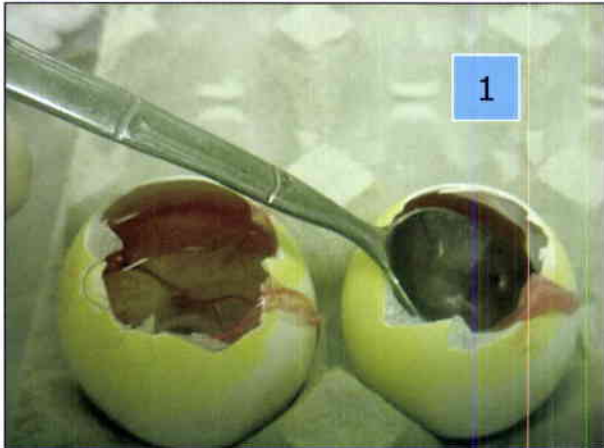
- الحقن في البيض المخصب الخالي من مسببات المرضية SPF بعمر 9 - 11 يوماً.

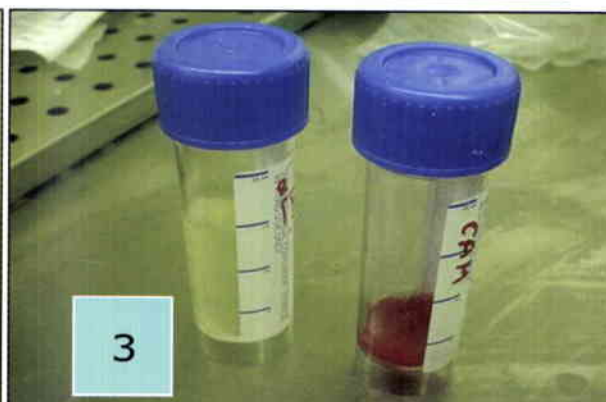


- حضن البيض ومراقبة لمدة 2 - 7 أيام.

- جمع السائل اللقائقي AF والغشاء الكوريوني اللقائقي CAM.

- إجراء فحص التلازن الدموي.





■ تحديد فيروس الانفلونزا نوع A :

1. الفحص السريع Immunochromatographic test

محاسنه:

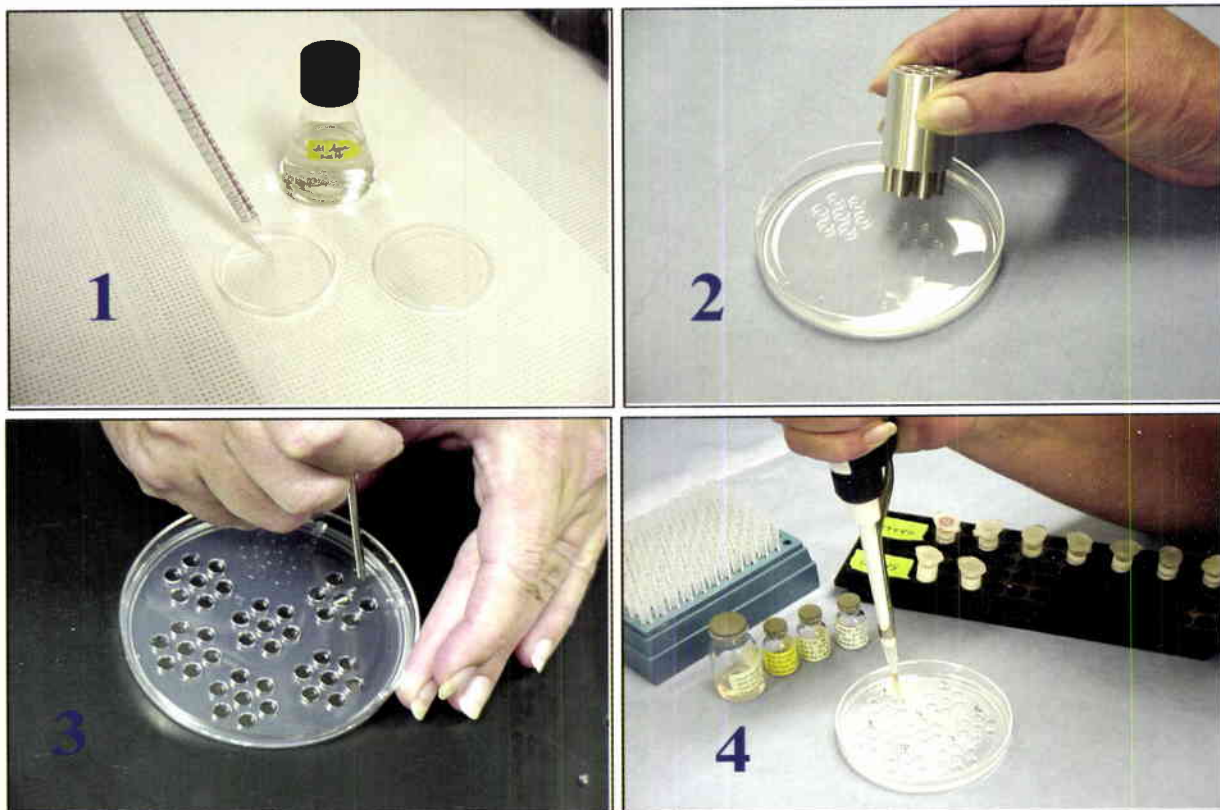
- سريع (خلال 20 دقيقة).
- عالي الخاصية.
- لا يحتاج إلى أجهزة ومعدات.

مساوئه:

- مرتفع الثمن نوعاً ما (7-10\$).
- قليل الحساسية.
- يعطي نتائج كاذبة.

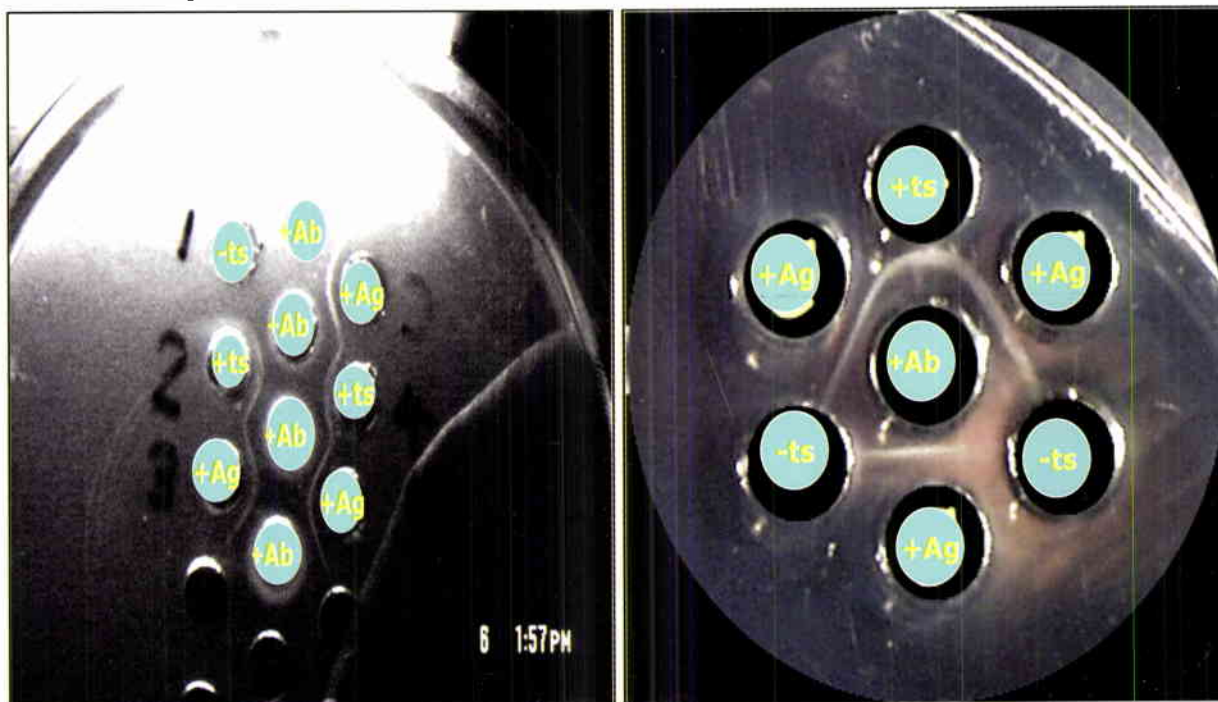


2. فحص الترسيب في هلامة الأجار:



فحص الترسيب في هلامة الأجار

فحص الترسيب في هلامة الأجار يحدد نوع A

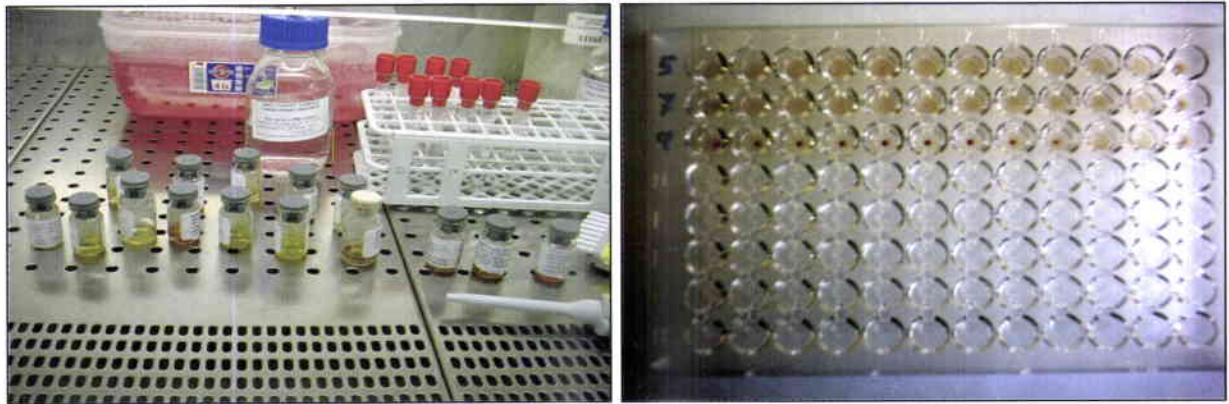


3. فحص الاليزا غير المباشر يحدد عن نوع A Indirect ELISA

Bird species	ELISA (mean $\pm$ SD)
لادم <i>Broiler</i>	474 -1714 (980 $\pm$ 474)
بياضن <i>Layer</i>	448 -1153 (616 $\pm$ 379)
أمهات لادم <i>Br. Breeder</i>	0 -1513 (612 $\pm$ 410)

■ تحديد النمط المصلي H1- H15

فحص تثبيط التلازن الدموي (2 – 4 hours) Haemagglutination inhibition



الفحوصات الجزيئية.

RT-PCR -

Real-time RT-PCR -



Real time PCR

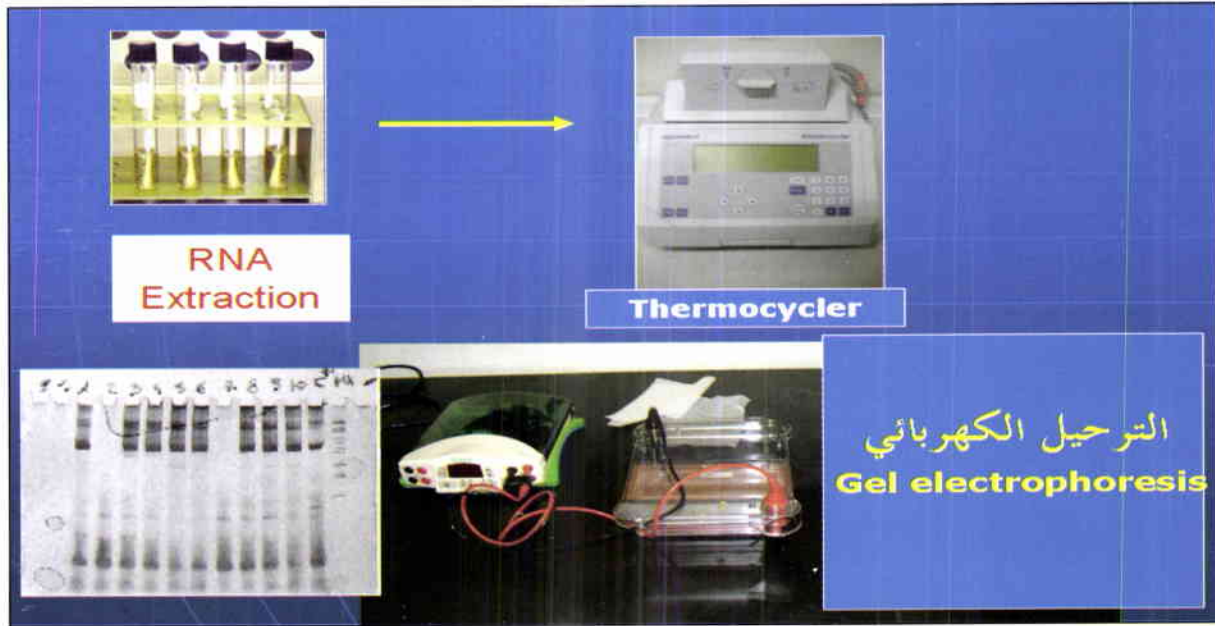


Thermocycler

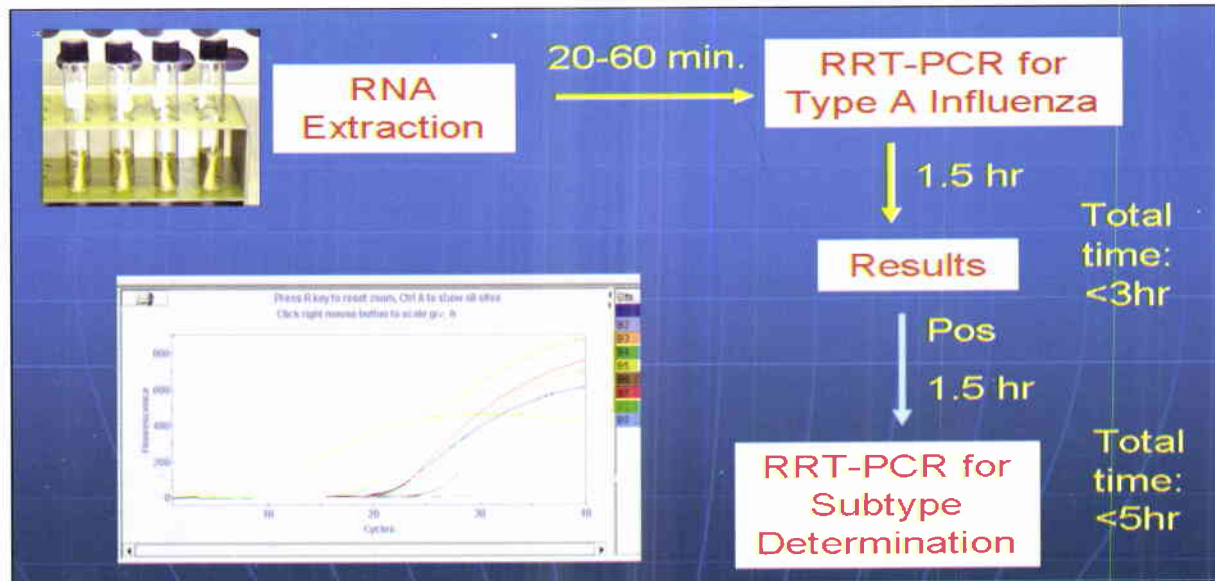
■ محاسن فحص تفاعل سلسلة البلمرة PCR

- فحص عالي الحساسية مقارنة مع عزل الفيروس.
- يمكن إجراء الفحص خلال ساعات وإظهار النتيجة.
- يمكن إجراء الفحص على كمية بسيطة من الحامض النووي.
- أكثر أمان من العزل.

■ RT-PCR



■ Real-time RT-PCR



■ تحديد النمط المصلي N1- N9

– فحص تثبيط انزيم النيورامينيداز Neuraminidase inhibition test

Seria 1 #	Sample #	Bird species	HI	PCR	PCR	Direct gene Elisa	Sequencing
1	MD 466	LAYER	H9	Type A	H9		
2	MD 469	BR. BREEDER	=	Type A	H9		H9N2
3	MD 554	BROILER	=	Type A	H9		H9N2
4	MD 643	BR.BREED ER	=	Type A	H9		
5	MD 802	DUCK	=	Type A	H9		H9N2
6	MD 964	LOCAL	=	Type A	H9		
7	MD 973	BROILER	=	Type A	H9		
8	MD 997	BROILER	=	Type A	H9	+	
9	MD 1342	BROILER	=	Type A	H9		
10	MD 1401	LOCAL	=	Type A	H9	+	
11	MD 1408	BROILER	=	Type A	H9		
12	MD 1409	BROILER	=	Type A	H9		
13	MD 1424	BROILER	=	Type A	H9		
14	MD 1451	BROILER	=	Type A	H9		
15	MD 1452	BROILER	=	Type A	H9		H9N2
16	MD 1453	BROILER	=	Type A	H9		
17	MD 1509	BROILER	=	Type A	H9		
18	MD 1529	BROILER	=	Type A	H9		
19	MD 1538	BROILER	=	Type A	H9		
20	MD 1539	BROILER	=	Type A	H9		
21	MD 1540	BROILER	=	Type A	H9		
22	MD 1567	BROILER	=	Type A	H9		

■ التشخيص التفريقي للمرض:

➤ النيوكاسل :

- الفحص السريع Immunochromatographic test
- الحقن في البيض المخصب الخالي من مسببات المرضية SPF بعمر 9 – 11 يوماً .
- فحص الاليزا غير المباشر .
- فحص تثبيط التلازن الدموي .
- فحص تفاعل سلسلة البلمرة PCR .

➤ التهاب الشعب الهوائية:

- الحقن في البيض المخصب الخالي من مسببات المرضية SPF بعمر 9 – 11 يوماً .
- فحص الاليزا غير المباشر

➤ التهاب الحنجرة والقصبة الهوائية المعدي:

- الفحص النسيجي للقصبة الهوائية لمشاهدة الأجسام النواتية المحتواة
- الفحص الاستشعاعي FT على المقاطع النسيجية .
- فحص الاليزا غير المباشر .
- الحقن في البيض المخصب الخالي من مسببات المرضية SPF على CAM .
- حقن دجاج غير محصن .

➤ كوليرا الدجاج:

- صبغ لطخة دموية على شريحة زجاجية بصبغة الكرام .
- حقن الحيوانات المخبرية مثل الأرنب أو الفأر .

شكراً لكم

حمى الله الأردن وقائده وشعبه

طرق مكافحة مرض أنفلونزا الطيور

الدكتور طلال نصار
المدير الفني لشركة (جوفاك)
المركز الأردني للصناعات البيولوجية

طرق مكافحة مرض أنفلونزا الطيور

إعداد : الدكتور طلال نصار

المدير الفني لشركة (جوفاك)

المركز الأردني للصناعات البيولوجية

مقدمة:

مرض معدي فيروسي يسبب أعراض مختلفة على الطيور بعضها حاد وخطير (مثل طاعون الدجاج) والآخر أقل حدة وذلك حسب عترة الفيروس المسببة للمرض ونوع الطيور المصابة بالإضافة إلى وجود عوامل مهيئة تزيد من حدة المرض. ويتميز هذا المرض بسرعة انتشاره وارتفاع نسبة النفوق في الحالات الحادة شديدة الضراوة أما في الحالات الأقل حدة فتكون نسبة النفوق منخفضة .

وينقسم هذا المرض إلى نوعين حسب شدة الإصابة :

■ أنفلونزا الطيور عالي أو شديد الضراوة

1-Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI)

■ أنفلونزا الطيور منخفض أو ضعيف الضراوة

2- Low Pathogenic Avian Influenza (LPAI)

مسببات مرض الأنفلونزا :

تنقسم مسببات مرض الأنفلونزا إلى ثلاث فئات هي :

■ A, B, C

■ الفئتان B and C تصيبان الإنسان

■ أما الفئة A فتصيب الطيور والإنسان والخنازير والقوارض الخ.

وهي التي تسبب مرض أنفلونزا الطيور

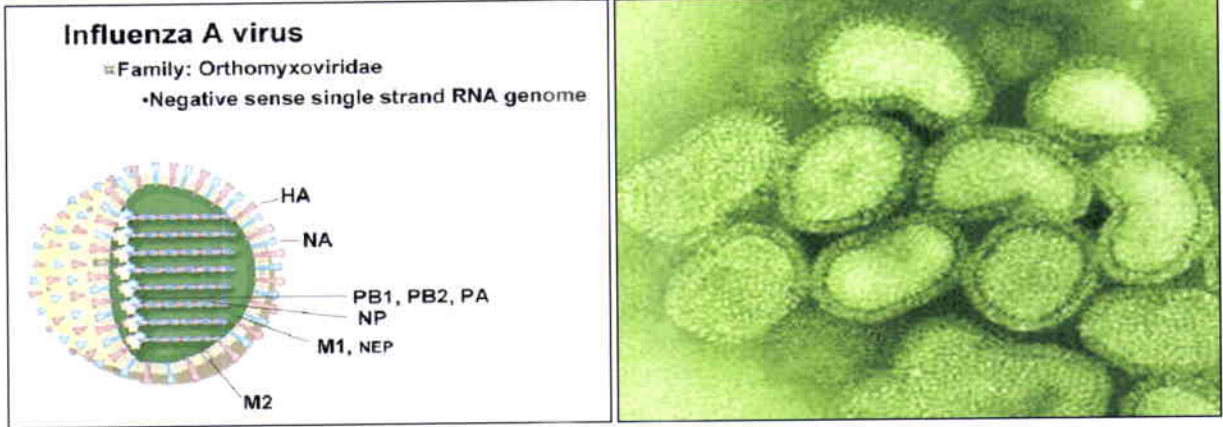
مرض أنفلونزا الطيور:

يسبب هذا المرض فيروس أنفلونزا الطيور نوع A وينتمي إلى عائلة الارثوميكزو فيروس وهو من مجموعة فيروسات RNA ويوجد على غلاف هذا الفيروس نتوءات جلايكوبروتينية لها نشاط هيمما غلوتيني ونيورامينيديزي (HA and NA activity) Haemagglutinating and Neuraminidase Activity

وبناءً على الانتيجين هيمماغلوتينين (HA antigen) والانتيجين نيورامينيديز (NA antigen) يتم تقسيم فيروس الأنفلونزا A إلى 15 نمط مرتبطة ب (HA) من 1-15 و 9 أنماط مرتبطة ب (NA) من 1-9 وكل فيروس يحتوي على (NA) و (HA).

عرفت الأنماط H5, H7 بأنها الأنماط عالية الضراوة (HPAI) من فيروس الأنفلونزا A في كل من الدجاج والحش وأنواع أخرى من الطيور وهذه الأنماط منتشرة في أوروبا وأمريكا الشمالية وجنوب شرق آسيا.

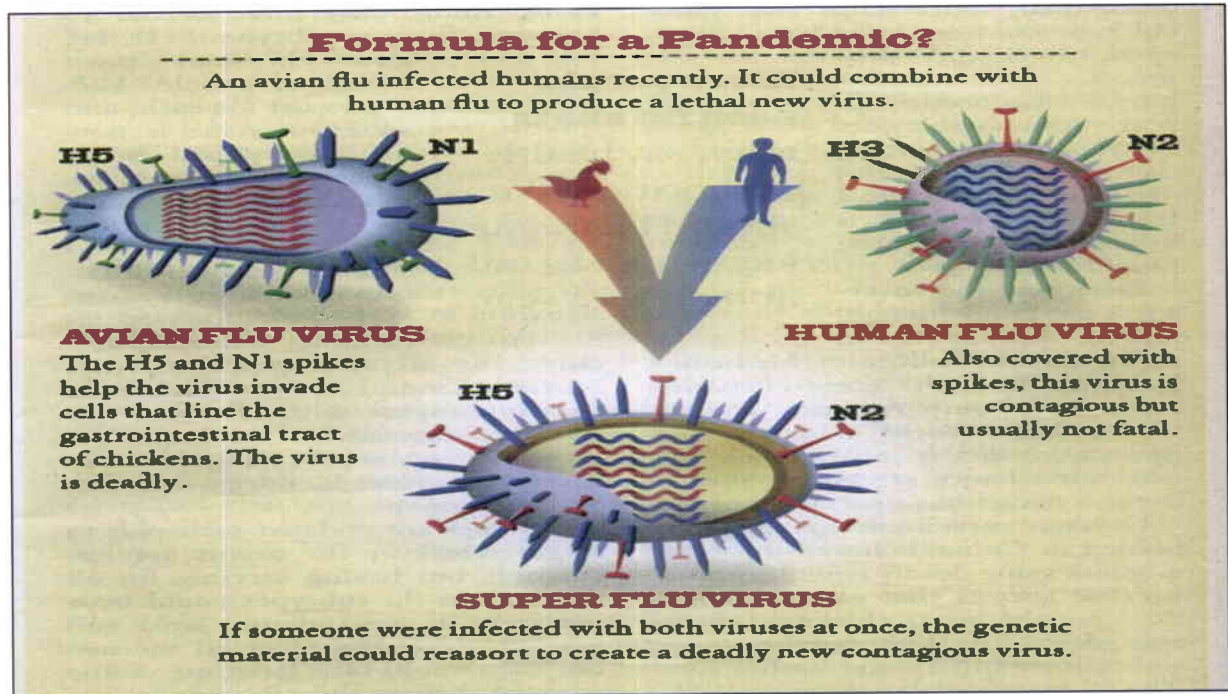
أما الأنماط المنتشرة في الشرق الأوسط فهي من الأنماط الأقل حدة (LPAI) ومنها نمط H9N2 الذي تم عزله من الدجاج في الأردن.



طفرات فيروس أنفلونزا الطيور:

- تحدث طفرات أو تغييرات لفيروس أنفلونزا الطيور ليتحول الى نوع عالي الضراوة في حالتين :
- نتيجة تغييرات جينية طفيفة في الفيروس Minor changes تؤدي إلى زيادة الضراوة وتسمى هذه التغييرات Antigenic drift – Point mutation
 - نتيجة تغييرات جينية كبيرة وأساسية في الفيروس Major changes تؤدي إلى :
 - زيادة في ضراوة الإنسان.
 - إصابة الإنسان.

وتسمى هذه التغييرات: Antigenic shift – genetic reassortment في حالة الإصابة المختلطة ان تربية الدواجن والخنازير في مزرعة واحدة وبشكل مكثف واختلاط الإنسان مباشرة مع هذه الحيوانات يشجع على زيادة ضراوة الفيروس للإنسان كما هو حاصل في دول منطقة جنوب شرق اسيا.



نتيجة لهذه التغيرات الجينية في الفيروس فقد حدثت ظاهرة خطيرة لهذا الفيروس في القرن العشرين أدت إلى ظهور مفاجئ لعثرات مختلفة جينياً في أربع مناسبات في العالم نتيجة تغيرات أساسية في الفيروس و تسمى هذه الظاهرة (Antigenic Shift) لم تكن هذه الفيروسات معروفة مناعياً للإنسان أو الحيوان.

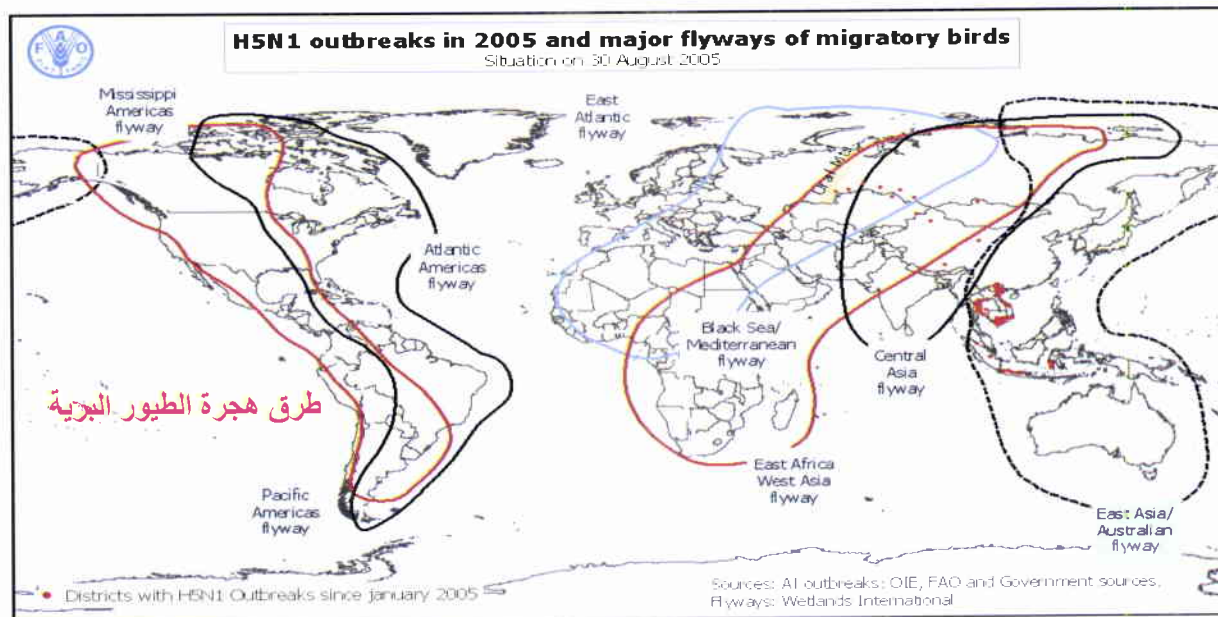
حيث أدت هذه الظاهرة إلى حدوث أوبئة عالمية (Pandemics) أودت بحياة عدد كبير من الأشخاص :

السنة	العثرة	اسم الجائحة	عدد الوفيات
1918	H1N1	الأنفلونزا الأسبانية	40-50 مليون إنسان
1957	H2N2	الأنفلونزا الآسيوية	4 ملايين إنسان
1968	H3n2	أنفلونزا هونغ كونغ	1-4 ملايين إنسان
1977	H1N1	-	-

كما أن هناك ظاهرة وبائية أخرى تظهر بين الجائحات نتيجة التحول الجيني الطفيف للفيروس (Point Mutation) تسمى (Antigenic Drift) أدت أيضاً لحدوث إصابات وبائية في السنوات الماضية في الولايات المتحدة وكندا وبريطانيا والمكسيك والفلبين والصين و الأردن و مصر واندونيسيا وتايلاند ... الخ .

تواجد المرض وانتشاره:

ينتشر هذا المرض في كثير من دول العالم ويصيب الطيور الداجنة مثل : الدجاج والديك الرومي والإوز والفري والنعام والطيور الغينية والحجل والبط أما الحمام فلا يصاب بهذا المرض لكنه ينقل فيروس المرض.



وتعتبر الطيور المائية المهاجرة وبخاصة البط البري، حاملة للمرض ومصدر عدوى للديك الرومي والدجاج حيث تلعب دوراً بارزاً في نقل وانتشار هذا المرض خلال هجرتها من منطقة إلى أخرى حيث ثبت أن فيروس أنفلونزا الطيور يعيش لمدة 30 يوماً في زرق هذه الطيور ويقوم بتلويث البحيرات ومساحات المياه خلال هجرته.

طريقة انتقال المرض إلى الطيور:

- عن طريق الفم؛ بتناول غذاء أو ماء ملوثين من الافرازات المخاطية من الأنف وكذلك عن طريق زرق (روث) الدجاج المصاب.
- عن طريق الجهاز التنفسي (عدوى الرذاذ) وملتحمة العين.
- بواسطة العمال و الزوار والأدوات.
- عن طريق الطيور البرية المهاجرة وتلعب دوراً بارزاً في انتقال المرض من منطقة لأخرى
- عن طريق الخنازير المصابة.
- يمكن انتقال الفيروس عن طريق سطح قشرة البيضة ولكن الفيروس لا ينتقل في البيض عمودياً (داخل البيضة).

فترة الحضانة:

تتراوح فترة حضانة المرض من بضع ساعات إلى 3 أيام وذلك حسب:

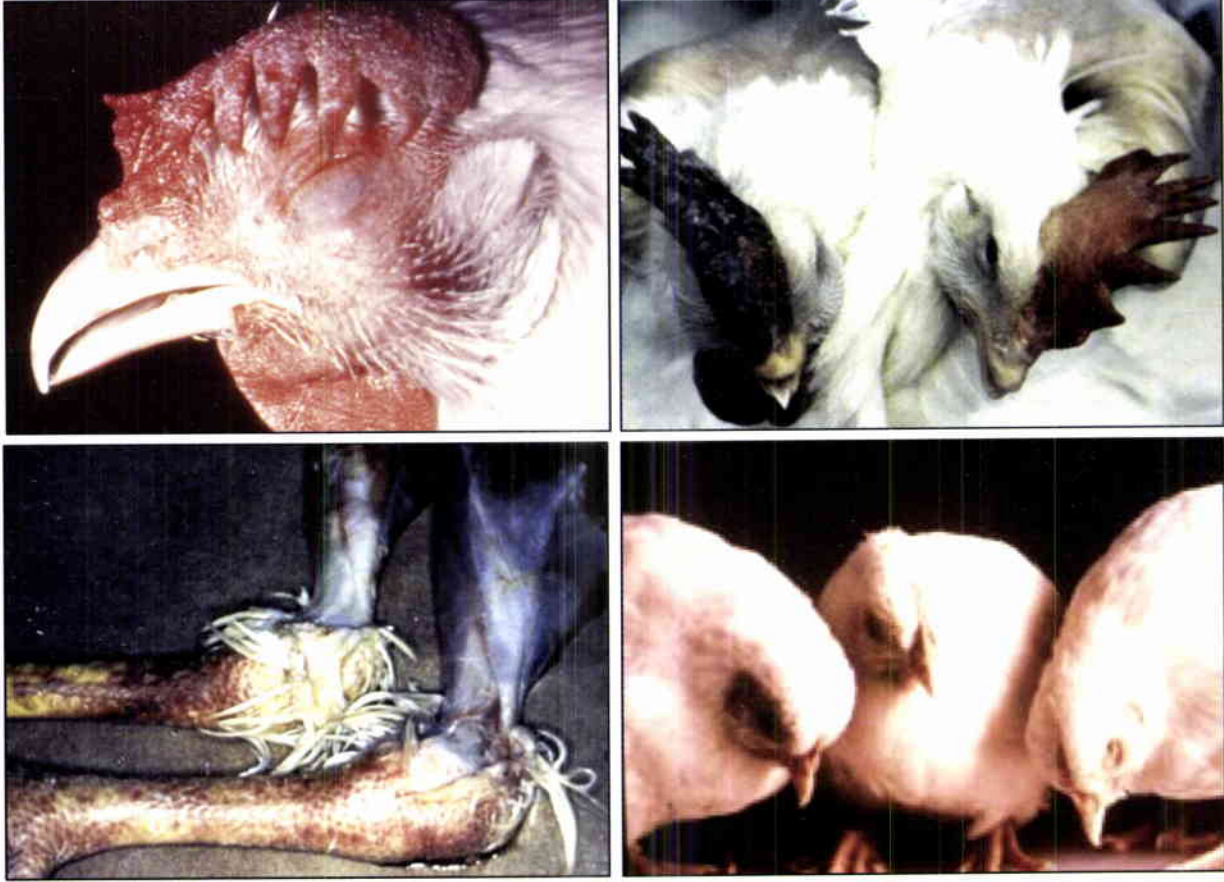
- نوع الفيروس .
- ضراوة الفيروس.
- كمية الفيروس.
- نوع الطيور المعرضة للإصابة.
- عمر الطيور.

الأعراض المرضية:

تختلف أعراض المرض حسب نوع الطيور المصابة وأعمارها وشدة ضراوة عثرة الفيروس بالإضافة إلى وجود عوامل بيئية وأمراض أخرى تساعد على زيادة حدة هذا المرض.

الأعراض المرضية للشكل عالي الضراوة (HPAI):

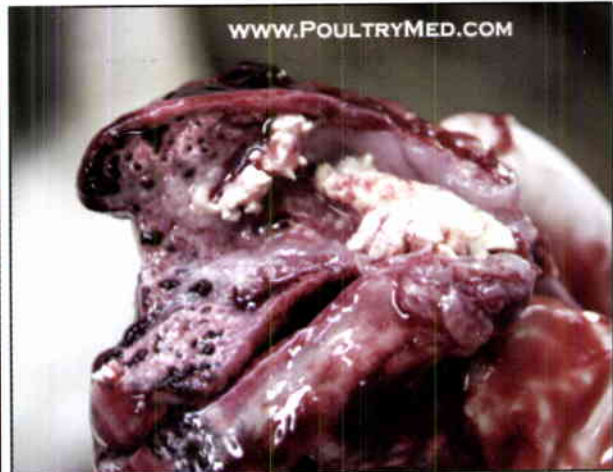
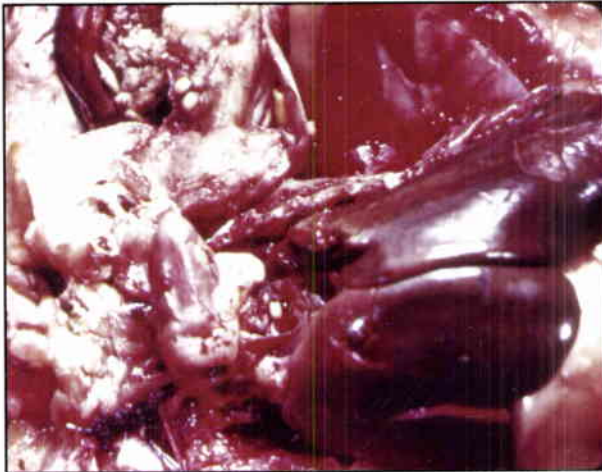
- نفوق سريع ومفاجئ يصل في كثير من الأحيان إلى 70% أو أكثر.
- خمول وانتفاش الريش وفقدان الشهية وإسهال مائي .
- ظهور أعراض تنفسية وتضخم في الجيوب الأنفية ورشح من العينين وتورم في الرأس.
- انخفاض في إنتاج البيض ونقص في نسبة التفريخ في الدجاج البياض والأمهات .
- احتقان وزرقة في العرف والدلائتين والوجه والرجلين.
- يلاحظ على الطيور المصابة اضطرابات عصبية على شكل التواء في الرقبة ورجفان ويمكن حدوث شلل جزئي أو كلي في الأطراف .



الأعراض المرضية للشكل منخفض الضراوة (LPAI):

يمكن تلخيصه على النحو التالي :

- أعراض تنفسية وخمول.
- فقدان الشهية وإسهال .
- انخفاض في إنتاج البيض ونقص في نسبة التفريخ في الدجاج البياض والأمهات.





طرق مكافحة المرض:

تتم مكافحة مرض أنفلونزا الطيور بطريقتين وهاتين الطريقتين تكمل إحداها الأخرى :

■ بواسطة الأمن الحيوي Biosecurity.

■ بواسطة التحصين : Vaccination.

إن الإجراءات الواجب اتخاذها في أي دولة يعتمد على وجود المرض وانتشاره أو عدمه في هذه الدولة ونمط الفيروس المنتشر ومدى الإمكانيات المتوفرة لدى هذه الدولة في مكافحة هذا المرض عند انتشاره.

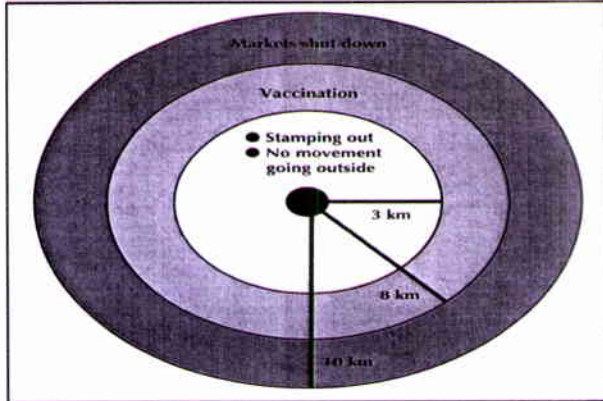
أولاً :- الأمن الحيوي:

إذا كانت الدولة خالية من مرض أنفلونزا الطيور عالي الضراوة (H5,H7) :

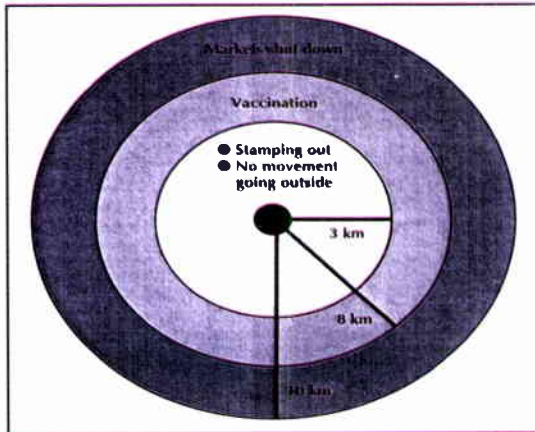
- المحافظة على عدم اختلاط الدواجن بالطيور المهاجرة أو البرية .
- فحص الطيور المهاجرة وبخاصة الناققة لاحتمالية وجود المرض فيها.
- وقف استيراد الطيور ومنتجاتها من الدول المصابة
- عدم السماح للطيور البرية من الوصول إلى علف الدواجن أو مياه الشرب أو الدخول إلى الحظائر.
- توعية العاملين وكافة المواطنين لخلق وعي عام للتعاون والتبليغ الفوري عند ظهور أية حالات وفاة عالية في مزارع الدواجن .
- تخزين استراتيجي للقاح أنفلونزا الدواجن من عترتي (H5,H7) للاستخدام في حالة ظهور المرض
- استخدام الإجراءات الصحية الوقائية اللازمة في تنظيف وتطهير المزارع والأدوات بالمطهرات الفاعلة واستخدام الملابس الواقية والكمادات والجزم وتطهيرها جيداً عند الاستعمال .

في حالة ظهور مرض أنفلونزا الطيور عالي الضراوة (H5,H7)

حجر المناطق الموبوءة ومنع التنقل منها وإليها إلا للعاملين المصرح لهم بالدخول ضمن دائرة نصف قطرها 3كم.



- التخلص من القطعان المصابة في المزارع أما بواسطة الحرق أو الدفن وكذلك مخلفات الدواجن حيث تعتبر أكبر مصدر عدوى للمرض.
- تطهير جميع الأدوات والآليات المستخدمة في المزرعة بأحد المطهرات الفاعلة ومنع انتقال الآليات والأدوات من و إلى المزرعة المصابة.
- وفي حالة إتلاف أي قطيع مصاب بمرض أنفلونزا الطيور فإنه يترتب على ذلك اتخاذ قرار بتعويض الخسائر المترتبة على ذلك.
- استخدام ملابس واقية واتباع شروط السلامة العامة أثناء التعامل مع القطعان المصابة لمنع انتقال المرض إلى العاملين.



- إخضاع جميع العاملين في المزارع المصابة لفحوصات طبية وتوعيتهم وإبلاغ وزارة الصحة لمراقبة هؤلاء العمال خوفاً من انتقال العدوى إليهم.
- تغلق جميع أسواق بيع الدواجن الحية والنتافات ضمن دائرة نصف قطرها 10 كم.
- تحصين القطعان التي يمكن انتقال المرض إليها ضمن دائرة نصف قطرها 8 كم.

ثانياً : التحصين:

■ أنواع لقاح أنفلونزا الطيور المتوفرة في الأسواق :

1. **Inactivated oil emulsion vaccines** لقاح أنفلونزا الطيور الميت الزيتي
يحمي هذا اللقاح الطيور جيداً ضد الإصابة بمرض أنفلونزا الطيور عند تحصينها وتبقى هذه
المناعة لمدة طويلة لحماية الطيور من المرض أكثر من أي نوع آخر من أنواع اللقاحات الخاصة
لمرض أنفلونزا الطيور كما أن هذه اللقاح يحمي الطيور من انخفاض إنتاج البيض نتيجة الإصابة
ويقلل من الإصابة الفيروس في الطيور المصابة والأهم من ذلك فإنه يمنع من حدوث المصاب.
2. **Recombinant live vaccines Usually with HA Fraction inserted in Pox Virus**
هذا اللقاح فاعل جداً للطيور التي ليس لديها أجسام مناعية ضد مرض جدري
الطيور لكن فاعليته محدودة المدة.

3. **Subunit killed vaccines** اثبت هذا اللقاح فاعليته لمنع النفوق في الطيور ولكن سعره
مرتفع جداً

حسناً وسينات تحصين الدواجن بلقاح أنفلونزا الطيور:

■ حسناً التحصين:

1. عند التحصين يمنع اللقاح من ظهور المرض على الطيور لكنه لا يمنع من الإصابة بالمرض . كما
انه يحد من ارتفاع نسبة النفوق في الطيور المصابة ويقلل من انخفاض إنتاج البيض .
2. يقلل اللقاح من إفرازات الطيور المصابة من الفيروس وهكذا يحد من انتشاره إلى الإنسان ويمنع من
ظهور عترات وبائية جديدة.
3. يوجد لدى بعض المختبرات القدرة على التفريق بين الطيور المصابة والطيور المحصنة
(DIVA) عن طريق الفحوصات السيرولوجية أو بواسطة استعمال طريقة تعليم الطيور غير
المحصنة بعلامة خاصة بالجناح (sentinel birds)
4. في بعض الدول وفي حالات الإصابة بفيروس أنفلونزا الطيور منخفض الضراوة (LPAI) فإن
تحصين الطيور يؤدي الى تحاشي التعويض.

■ سينات التحصين:

1. في بعض الحالات يصعب التفرق بين الطيور المحصنة والطيور المصابة حقلياً عن طريق
الفحوصات السيرولوجية.
2. يمكن أن يؤدي التحصين إلى ظهور عترات جديدة من فيروس أنفلونزا الطيور نتيجة الضغط
الانتقائي أو الثقل الاختياري Selection Pressure لهذا الفيروس.
3. الخوف من إطالة استعمال اللقاح والاعتماد عليه على المدى الطويل وعدم الاستغناء عنه
4. عند القيام بتحصين الدجاج فإنه يحد من سرعة اتخاذ الاجراءات الصحية الوقائية
للقضاء على المرض.
5. الاعتماد على التحصين يجعل المزارعين لا يقومون باتباع الطرق الوقائية والصحية الأخرى في
مكافحة المرض ولا يتقيدون بتطبيق اجراءات الأمن الحيوي.

التحصين:

1. تتوفر في الأسواق المحلية لقاحات مختلفة من إنتاج شركات محلية وأجنبية إذ يتوفر لقاح زيتي ميت من إنتاج شركة جوفاك في الأردن تم تحضيره من عترة محلية عزلت من منطقة الزرقاء من فيروس الأنفلونزا A عترة H9N2 واسمه التجاري Jovazeit 7. AI .H9N2
2. يستعمل هذا اللقاح الزيتي الميت للوقاية من مرض أنفلونزا الطيور منخفض الضراوة من عترة H9N2 حسب البرنامج التالي :
 - إذا كانت المناعة الأمية لهذا المرض غير متواجدة في الصيصان بعمر يوم واحد فانه ينصح بتحصينها على عمر 7-10 ايام ويعاد التحصين على عمر 6-10 أسابيع أما التحصين الثالث فيعطى على عمر 16-20 اسبوعاً .
 - إذا كانت المناعة الامية لهذا المرض جيدة في الصيصان على عمر يوم واحد فانه ينصح بتحصينها على عمر 3-4 أسابيع ويعاد تحصينها على عمر 16-18 اسبوع
 - في الحالات الطارئة وعندما يكون المرض منتشرأ في المنطقة فانه ينصح بإعطاء اللقاح خلال فترة الإنتاج .

الخاتمة : Conclusion

نظراً لطابع فيروس أنفلونزا الطيور دائم الطفرات فإنه لا يمكن التنبؤ بتوقيت حدوث الجائحة التالية . ومدى شدتها ونمطها وتحذر منظمة الصحة العالمية بأن هذه الجائحة قادمة ولكن لا تعرف متى ونحن بدورنا ندعو دول المنطقة لوضع الخطط اللازمة لمواجهة هذه الجائحة.

الإستراتيجيات العالمية في مواجهة مرض أنفلونزا الطيور

د. زياد علي المومني
رئيس قسم صحة الدواجن
مديرية البيطرة
وزارة الزراعة

الإستراتيجيات العالمية في مواجهة مرض أنفلونزا الطيور

د. زياد علي المومني
رئيس قسم صحة الدواجن
مديرية البيطرة – وزارة الزراعة

تقييم الوضع:

- خطر حدوث الجائحة وارد بشدة .
- الخطر سيستمر .
- تطور الخطر لا يمكن التنبؤ به .
- ضعف نظام الإنذار المبكر .
- التدخل الوقائي ممكن ولكن لم يجرب بعد .
- عدم كفاية الإمدادات الدوائية .

الأغراض المنشودة:

المرحلة السابقة للجائحة:

1. تقليل فرص إصابة الإنسان بالعدوى.
2. تعزيز نظام الإنذار المبكر.

مرحلة ظهور الفيروس الجانح:

3. احتواء أو تأخير الانتشار في المنشأ.

مرحلة ظهور الجائحة على الصعيد الدولي:

4. الحد من حالات الإصابة والوفيات والاضطراب الاجتماعي.
5. إجراء البحوث لتوجيه تدابير الاستجابة.

تقليل فرص إصابة الإنسان بالعدوى:

- الوقاية من السلوكيات التي تعرض البشر للفيروس.
- دعم استراتيجيات مكافحة المرض في الدواجن.
- تكثيف التعاون بين قطاع صحة الحيوان وقطاع الصحة العمومية .
- تعزيز إبلاغ سكان الريف بالمخاطر القائمة .
- تحسين النظم المتبعة في الكشف عن الفيروس في البيئة.

تعزيز نظام الإنذار المبكر:

- تحسين كشف حالات الإنذار المبكر.

- الجمع بين الإصابات الجديدة لدى الحيوان وبين إجراء البحوث الفاعلة لتحري الإصابة بين البشر.
- دعم التقصيات الوبائية .
- تنسيق البحوث السريرية في آسيا .
- تعزيز مراكز الأنفلونزا الذي عينته المنظمة
- إعطاء البلدان المعرضة للمخاطر حوافز للتعاون على الصعيد الدولي .

احتواء أو تأخير الانتشار في المنشأ:

- تكوين مخزون احتياطي دولي من الأدوية المضادة للفيروسات.
- إنشاء آليات لتسليم الأدوية المضادة للفيروسات بأعداد كبيرة.
- القيام بترصد الحساسية للأدوية المضادة للفيروسات

الحد من حالات الإصابة والوفيات والاضطراب الاجتماعي:

- رصد تطور الوباء في الوقت الحقيقي.
- اتخاذ التدابير غير الصيدلانية
- استعمال الأدوية المضادة للفيروسات لحماية الفئات ذات الأولوية
- زيادة إمدادات اللقاح.
- ضمان المساواة في الحصول على اللقاح.
- إبلاغ الجمهور بالمخاطر القائمة.

إجراء البحوث لتوجيه تدابير الاستجابة:

- تقييم السمات الوبائية للجائحة الناشئة.
- رصد فعالية التدخلات الصحية .
- تقييم العواقب الطبية والاقتصادية.

تقييم الوضع الحالي:

- توسع انتشار المرض.
- استيطان المرض في قطعان الدواجن.
- انتشار المرض لم يعد تحت السيطرة.
- الحاجة ماسة للدراسات الوبائية.
- خطورة انتقال المرض بواسطة الطيور المهاجرة والطيور البلدية المخزنة للفيروس.
- ضعف نظام الإنذار المبكر.
- خطورة انتقال المرض للإنسان.

خطة السيطرة والتخلص من المرض:

- الرصد المبكر.
- 1. زيادة مستوى الوعي.
- 2. رفع مستوى قدره على التشخيص والفحص المخبري.
- 3. مراقبة قطعان الدواجن والطيور البرية والبلدية
- 4. أخذ عينات من مزارع الدواجن والطيور والمسالخ والطيور المستوردة وفحصها.
- 5. التخلص من القطعان المصابة بالفيروس عالي الضراوة (HPAI) وتفعيل نظام التعويض.
- 6. تطبيق نظام الأمن الحيوي وشروط السلامة العامة.
- 7. استخدام التلقيح في حال عدم التخلص الجماعي.

الصحة العامة وسلامة الغذاء :

- زيادة الوعي للمزارعين .
- توفير الملابس الواقية .
- التخلص من القطعان المصابة بطرق سليمة تحافظ على البيئة.
- اتخاذ الإجراءات السليمة في التعامل مع المنتجات الغذائية من الدواجن وأثناء التصنيع الغذائي.
- تطعيم المتعاملين مع القطعان المصابة بلقاح الأنفلونزا الموسمية.

استراتيجية مقترحة للوطن العربي :

- التعاون في مجال الرصد المبكر للمرض.
- 1. رفع كفاءة القدرة التشخيصية للمرض.
- 2. اعتماد مختبرات مرجعية .
- 3. إجراء دراسات وبحوث مشتركة.
- 4. تبادل المعلومات.

التعاون في مجال التشريعات والقوانين :

- تعليمات الحجر البيطري .
- التجارة البينية .

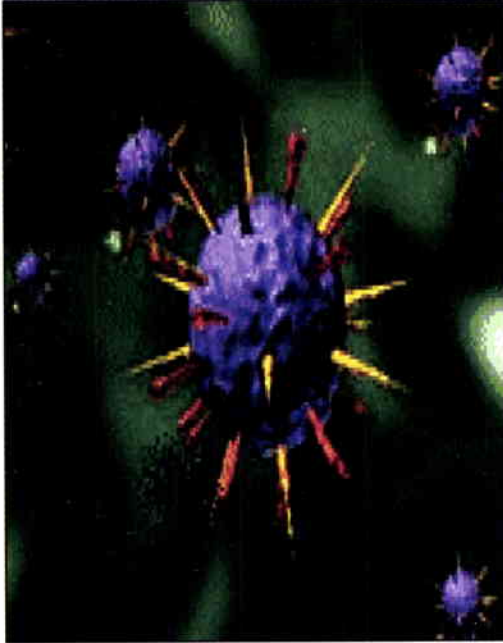
التعاون في مجال تصنيع اللقاحات والعلاجات

وبائية أنفلونزا الطيور والإجراءات المتخذة لمواجهة الوباء العالمي

الدكتور عادل البليسي

وبائية أنفلونزا الطيور والإجراءات المتخذة لمواجهة الوباء العالمي

Avian Influenza / Pandemic Influenza

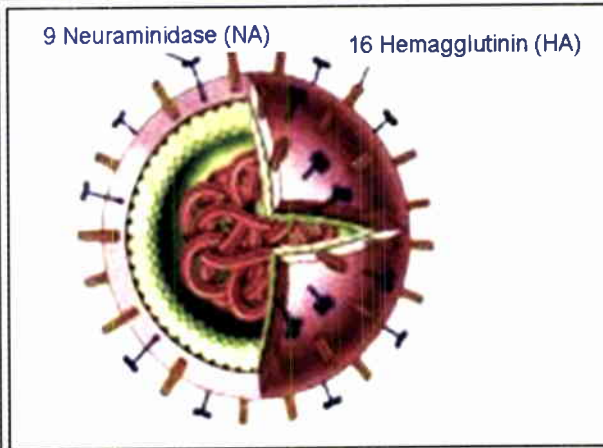
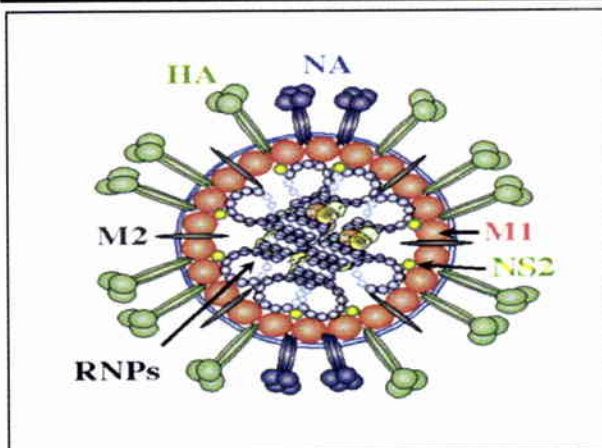
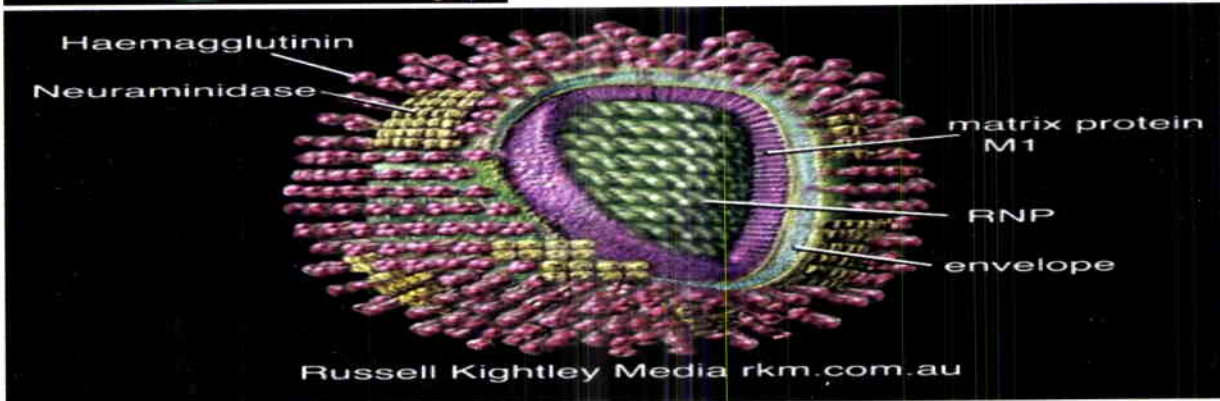


فيروس الأنفلونزا (Influenza):

- عائلة Orthomyxoviridae
- أنفلونزا A, B, C
- نوع A يصيب الحيوان (الطيور والخنازير) والإنسان
- أنواع B و C يصيبان الإنسان فقط

فيروس الأنفلونزا A:

- الطيور:
- أنواع H5 و H7 شديدة الخطورة .
- الإنسان:
- H1, H2, H3 ممرضة.
- N1, N2 ممرضة .

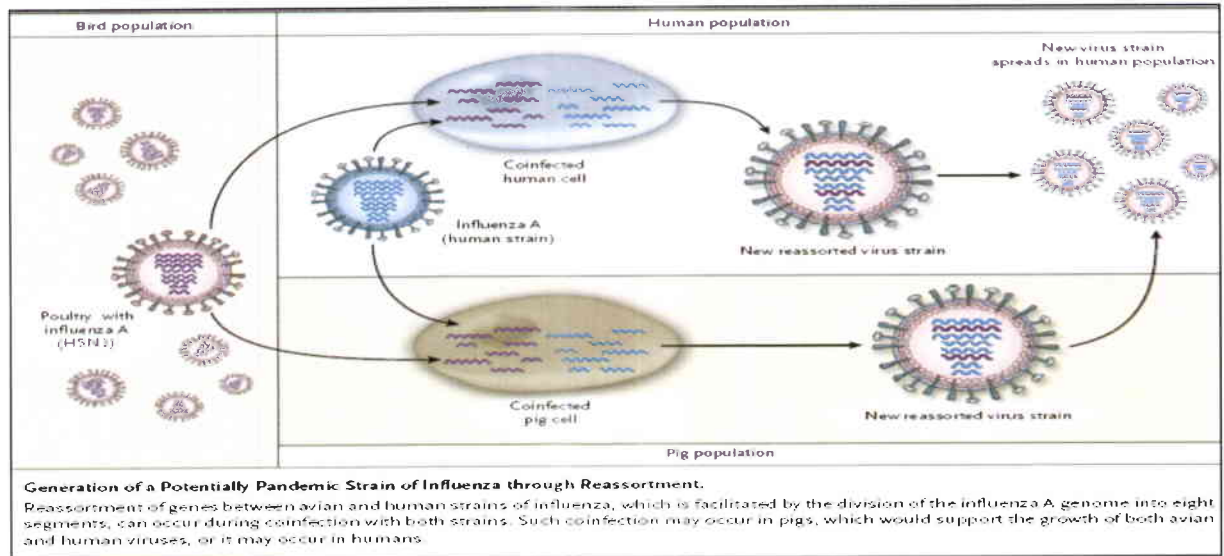


صفات فيروس الأنفلونزا A:

- يعيش فيروس الأنفلونزا:
 - 24-48 ساعة على الأسطح الصلبة الملساء.
 - 8-12 ساعة على الملابس والأوراق والأنسجة.
 - 5 دقائق على اليدين.
 - في الماء على درجة حرارة 22°م لمدة 4 أيام.
 - على درجة الصفر المئوي لمدة 30 يوماً .
 - على درجة حرارة 60°م لمدة 30 دقيقة.



- يقتل بالمطهرات: 70% الكحول والكlor واليود والفورمالين والايثر
- يتميز فيروس الأنفلونزا بأنه متحول، يغير تركيبته بين فترة وأخرى، مما يجعل عملية التطعيم ضده في أغلب الأحيان غير مجدية وبحاجة إلى تغيير مستمر.
- القدرة على تغير الفيروس و ظهور فيروس جديد ينتقل من إنسان إلى إنسان يمكن أن تحدث عن طريق:
- إعادة التشكيل الوراثي Genetic reassortment وهي عملية سريعة يتم فيها تبادل المادة الجينية بين فيروسات البشر و فيروسات الطيور أثناء العدوى المشتركة للإنسان أو الخنزير.
- الطفرة التكيفية وهي زيادة قدرة الفيروسات بالارتباط بالخلايا البشرية أثناء حالات العدوى لدى البشر وهذه العملية بطيئة .

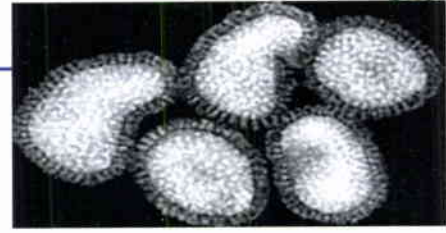


From Birds to Human

Migratory water birds



Domestic birds

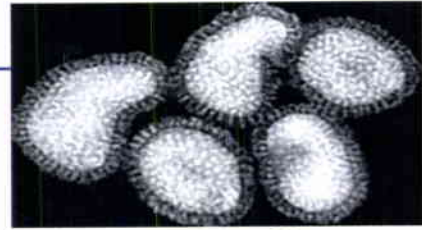


- Hong Kong 1997, H5N1
- HK, China 1999, H9N2
- Netherlands 2003, H7N7
- Hong Kong 2003, H5N1



Reassortment (in Human)

Migratory water birds



الشروط اللازمة لظهور وباء عالمي للأنفلونزا :

- انتقال فيروس الأنفلونزا من الطيور إلى الإنسان.
- ظهور نوع جديد من فيروس الأنفلونزا له الصفات التالية:
 - ينتقل من إنسان إلى إنسان.
 - عدم وجود مناعة له عند الإنسان.
 - شديد الإضرارية.
- لا يمكن التنبؤ بوقت حدوث الجائحة التالية و مدى شدتها.

الأوبئة العالمية في القرن الماضي

عام	الاسم	المسبب	عدد الوفيات
1918	Spanish flu	H1N1	50 مليون
1957	Asian flu	H2N2	2 مليون
1968	Hong Kong flu	H3N2	1 مليون

تعريف مرض أنفلونزا الطيور H5N1:

أنفلونزا الطيور مرض فيروسي ناجم عن فيروس H5N1 يصيب معظم أنواع الدواجن والطيور وتشمل الحبش ، الدجاج، الفري، البط ، الوز ، الببغاء، الطاووس كما يمكن أن يصيب أنواع أخرى من الحيوانات مثل الخنزير.

أنفلونزا الطيور H5N1 :

- سنة 1997 إصابة 18 شخصاً بفيروس أنفلونزا الطيور سلالة H5N1 في هونج كونج، توفي منهم 6
- منذ سنة 2003 تسبب هذا الفيروس في أكبر وأخطر وباء بين الدواجن.
- منذ سنة 2003 ينتشر فيروس أنفلونزا الطيور H5N1 بين الدجاج في كمبوديا، الصين، اندونيسيا، اليابان، كزاخستان، لاوس، ماليزيا، منجوليا، روسيا، كوريا الجنوبية، تايلندا، فيتنام، رومانيا، تركيا.



- حتى الآن أكثر من 121 حالة بشرية.

- وفاة أكثر من 61 منهم.
- معظم الحالات بين الأطفال والشباب الأصحاء .

الأشخاص الأكثر عرضة للإصابة:

- الأشخاص الذين يتعاملون مباشرة مع الطيور المصابة.
- العاملون في مزارع الدواجن.
- العاملون في المسالخ.
- النتافات.
- الأطباء البيطريون.
- الذين يتناولون اللحم غير المطبوخة جيداً.

كيف يمكن الوقاية من الإصابة بالمرض

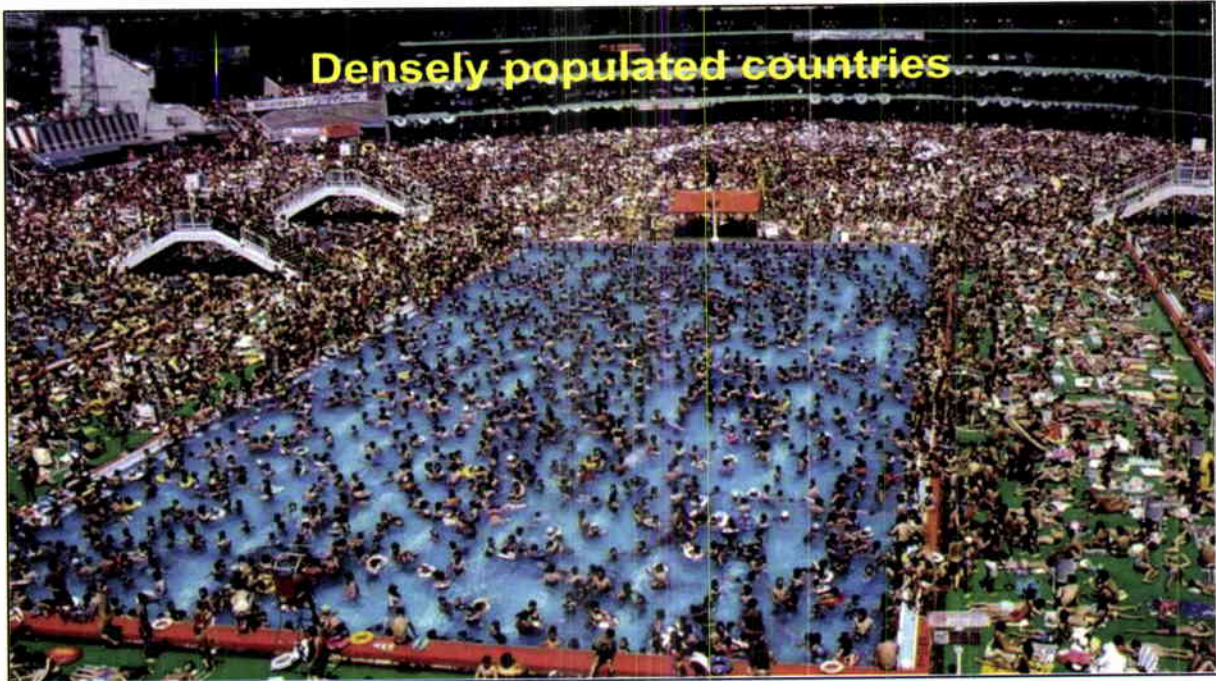
- تجنب الاتصال المباشر مع الطيور والدواجن المصابة.
- طبخ الطعام جيداً (لحوم الطيور والدواجن البيض).
- غسل الأيدي بالماء والصابون بعد التعامل مع الدواجن.

لماذا تعتبر سلالة H5N1 شديدة الخطورة:

- يتواجد الفيروس في الطيور المائية السليمة (بدون أعراض) مما يتسبب في نقل المرض إلى جميع مناطق العالم .
- شدة الأمراض للدواجن والطيور .
- التأثير السلبي على التجارة والوضع الاقتصادي (أكثر من 10 مليارات دولار في شرق آسيا).
- محدودية توفير العلاج وغلاء ثمنه .
- عدم وجود مطعوم فاعل حتى الآن.
- القدرة على إحداث ملايين الوفيات في حالة حدوث الوباء.

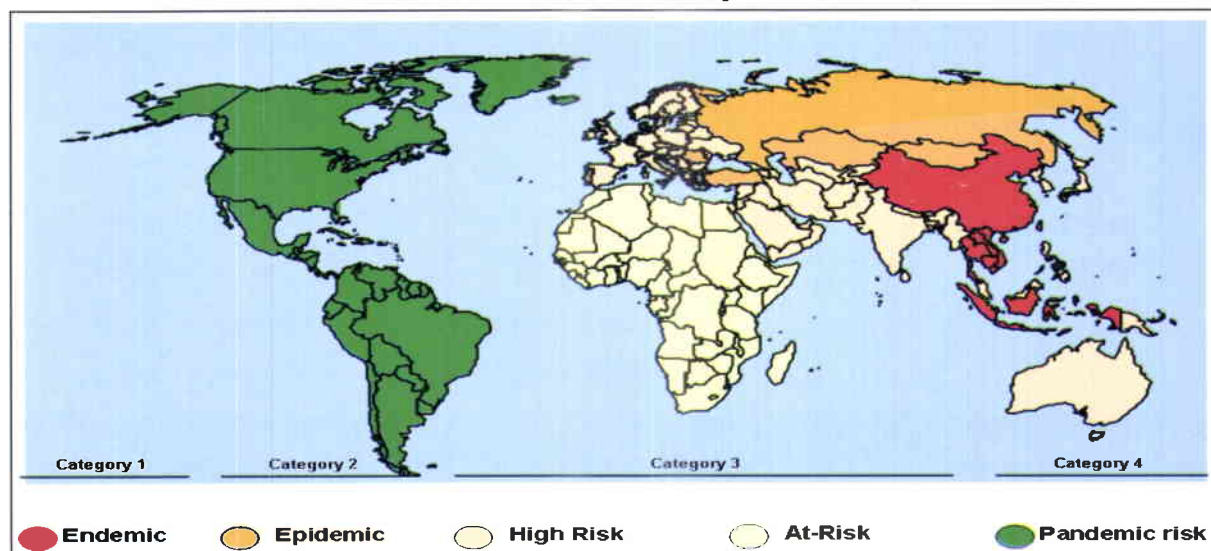
لماذا دول شرق آسيا:

- تربية أعداد كبيرة من الدواجن والطيور في مساحات صغيرة.
- أساليب التربية المفتوحة.
- الكثافة السكانية حول المزارع.
- تواجد مزارع الدواجن والخنازير والحيوانات الأخرى بجانب المنازل.
- عدم النظافة.
- استعمال مخلفات الدواجن لتغذية الحيوانات والطيور.
- العادات الغذائية السيئة (تناول اللحوم النيئة أو غير المطبوخة جيداً).
- الانتقال السريع المستمر للسكان والحيوانات.
- عدم التنسيق والتعاون بين القطاعات الزراعية والصحية.





الخطر العالمي لوباء أنفلونزا الطيور H5N1



طرق انتقال الفيروس إلى الطيور:

- عن طريق الفم: تناول غذاء أو ماء ملوثين من إفرازات أو روث الطيور المصابة.
- عن طريق الجهاز التنفسي (الرداذ).
- ميكانيكياً عن طريق العمال والزوار للمزارع.
- عن طريق الخنازير.
- احتمالية انتقال المرض من الأمهات المصابة (من خلال الفيروس الموجود على قشرة البيضة عند التفقيس).
- الطيور البرية والطيقة تلعب دوراً مهماً في نقل المرض من منطقة إلى أخرى ومن بلد إلى آخر.

طرق انتقال الفيروس إلى الإنسان:

- عن طريق الجهاز التنفسي من الطيور المصابة:
- بصورة مباشرة من خلال التعامل مع الطيور المصابة أو إفرازاتها.
- بصورة غير مباشرة عن طريق الأسطح والأدوات الملوثة بمخلفات وإفرازات الطيور المصابة.
- حتى الآن لم يبلغ عن أي حالة عدوى من إنسان إلى إنسان.

الوضع الحالي

Interpandemic		Pandemic alert			Pandemic
Phase 1:	Phase 2:	Phase 3:	Phase 4:	Phase 5:	Phase 6:
No new virus in humans	No new virus in humans	New virus in humans	Small clusters, localized	Larger cluster, localized	Increased and sustained spread in general human population
Animal viruses low risk to humans	Animal viruses high risk to humans	Little/no spread among humans	limited spread among humans	limited spread among humans	
		↑	↑ ?		
Current status of H5N1					

هل يمكن الوقاية من حدوث الوباء العالمي :

- نظرياً :
- بمضادات الفيروسات يمكن احتواء الوباء إذا تم اكتشاف الحالات الأولى مباشرة بعد تطور الفيروس لإنتقاله من شخص لآخر.
- المتطلبات:
- نظام رصد فاعل والإبلاغ الفوري.
- فريق استجابة سريعة.
- توفر مخزون استراتيجي من مضادات الفيروسات ووسائل الوقاية الشخصية.

■ التحديات:

- محدودية التمويل.
- محدودية الكوادر الصحية المدربة .
- محدودية التخطيط والتعاون والتنسيق بين القطاعات داخل الدولة وبين الدول.

■ التنبؤ بحدوث الوباء عالمياً:

- تحذر منظمة الصحة العالمية من قرب حدوث وباء عالمي وتدعو دول العالم لوضع الخطط لمواجهة
- معدل الإصابة المتوقع 35%
- معدل الوفيات المتوقع من 0.6% إلى 2.2%
- في حال حدوث الوباء العالمي و اعتماداً على المعطيات أعلاه، من المتوقع:
- إصابة حوالي 1.75 مليون شخص من سكان الأردن بالمرض.
- وفاة حوالي 10 آلاف شخص.

■ الإجراءات:

- تشكيل لجنة وطنية توجيهية عليا.
- برئاسة وزير الصحة وعضوية الأمناء العامين لوزارات الصحة، الزراعة، الداخلية، والمالية ومديري الخدمات الطبية الملكية، الأمن العام، الدفاع المدني ونقباء الأطباء البشريين والبيطريين والمهندسين الزراعيين.
- تشكيل لجان وطنية فنية منبثقة عن اللجنة الوطنية التوجيهية العليا في كل من وزارة الصحة ووزارة الزراعة.
- تشكيل لجان فرعية في المحافظات والألوية.

■ إجراءات وزارة الصحة:

- توفير مخزون استراتيجي من العلاجات المضادة للفيروسات.
- توفير المضادات الحيوية الضرورية الأخرى.
- تطعيم الأشخاص الأكثر عرضة للإصابة بمطعوم الأنفلونزا الموسمي.
- تجهيز بعض المستشفيات لاستقبال الحالات وعلاجها.
- توفير وسائل الوقاية الشخصية ووسائل التطهير ومنع العدوى.
- رفع كفاءة مختبرات وزارة الصحة في تشخيص فيروس أنفلونزا الطيور H5N1 في الإنسان وتزويدها بالكواشف والتدريب اللازمة.
- رصد مرض أنفلونزا الطيور H5N1 بين البشر .
- إعداد دلائل إرشادية عن المرض وطرق علاجه والوقاية منه وتوزيعها على جميع الأطباء في المملكة.



- تدريب الأطباء والكوادر الصحية للتعامل مع الحالات.
- إعداد وتنفيذ خطة إعلامية لتثقيف الجمهور حول المرض وطرق الوقاية وتجنب السلوكيات التي تعرض الإنسان للفيروسات .
- تحديد الإجراءات الأخرى الواجب اتخاذها للحد من انتشار المرض (منع التجمعات، الحجر الصحي، تعليمات الانتقال والسفر، النظافة العامة والنظافة الشخصية).
- توفير مطعوم أنفلونزا الوبائي العالمي لتطعيم المواطنين (في حال توفره).

هل تملك الدول القدرة على احتواء فيروس H5N1 :

- معظم الدول النامية ليس لديها القدرة الكافية على:
- مراقبة ومتابعة المرض
- اكتشاف وتحديد الفيروس الجديد .
- استقصاء الأوبئة وطرق الانتقال .

- توفير مخزون استراتيجي من العلاجات.
- الاستجابة السريعة بفرق مدربة.
- تثقيف المراجعين بطرق الوقاية والعلاج.
- التنسيق والتعاون بين الصحة والزراعة.
- الوضع في الأردن مختلف.
- مزارع الدواجن مغلقة.
- عدم وجود تواصل مباشر بين الطيور البرية والداجنة.
- قلة المساحات المائية.

العلاج والوقاية:

- مضادات الفيروسات Oseltamivir عيار 75 ملغراماً.
- العلاج حبة مرتين يومياً لمدة خمسة أيام.
- للوقاية حبة يومياً لمدة 6 أسابيع.
- المضادات الحيوية الأخرى.

أعراض المرض:

- نفس أعراض الأنفلونزا العادية .
- حرارة 38 م° فأكثر.
- سعال.
- إلتهاب الجهاز التنفسي العلوي (إلتهاب الأنف ، ملتحمة العين والحلق)
- إسهال ، تقيؤ، مغص gastroenteritis
- إلتهاب الدماغ acute encephalitis مع تشنجات
- Community acquired pneumonia
- يمكن أن تؤدي جميع هذه الأعراض إلى acute respiratory distress syndrome أو multiple organ dysfunction syndrome
- الخبرة المكتسبة من أحداث 1997 تدل أن الاطفال أقل من 6 سنوات يشكون تلقائياً SELF LIMITING وتنخفض الحرارة خلال 48 ساعة .
- CASE FATALITY RATE 33% لجميع الحالات و 55% للحالات المصاحبة لإلتهاب الرئة
- بعض الحالات كانت مصاحبة ارتفاع
- LIVER FUNCTION TEST
- LYMPHOPENIA
- THROMBOCYTOPENIA
- PROLONGED CLOTTING TIME

Lab Tests

- Specimen: ■
- nasopharyngeal aspiration ■
- Bronchalveolar lavage ■
- Nasopharyngeal swab ■
- Throat swab ■
- Stool ■
- patients with diarrhoea ■
- Rectal swab ■
- Serum and cerebrospinal fluid (patient with encephalitis) ■
- All specimens should be collected in airborne precaution ■

طرق الكشف عن الفيروس:

- الزراعة: (culture) وتزرع على وسط ■
- madin – darby canine kidney cell line او (chick embryo خلال 48 ساعة) ■
- طرق الفحص السريع للكشف عن antigen باستعمال طريقة ■
- immunoflourescent assay – وإذا كان الفحص إيجابي
- طرق خاصة للكشف عن H1,H3,H5 antigen ■
- Immunochromatografic or membrane enzyme immuno assay – (نصف ساعة)
- Reverse transcription RT-PCR ■
- ارتفاع مستوى الأجسام المضادة إلى أربعة أضعاف ويجب تأكيد الفحص بواسطة Western Blot ■

العلاج:

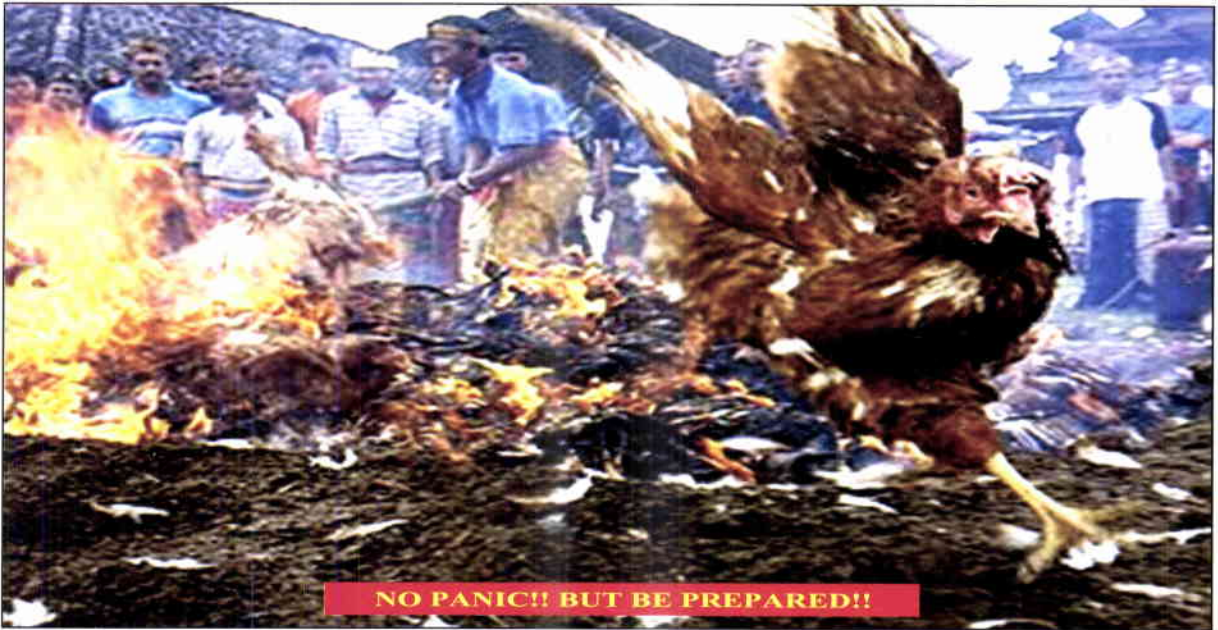
- Neuraminidase inhibitor استعمال مثبطات النيورامينيداز. ■
- يوجد نوعان من هذه المثبطات. ■
- Oseltamivir كبسولة يومياً لمدة 5 أيام ■
- 100 Zanamivir ملغم استنشاق مرتين يومياً لمدة 5 أيام ■
- يمكن في الحالات الشديدة أو حالات نقص المناعة أو حالات الإسهال الشديد إعطاء ضعف الجرعة أي 150 ملغم 2 X لمدة 5 أيام حيث يعمل على مايلي : ■
- خفض أعداد الفيروسات في إفرازات الجهاز التنفسي viral load.
- تقصير فترة المرض.

الوقاية:

- للعاملين الصحيين، فرق الاستقصاء والزيارات الميدانية، عمال المزارع، الأطباء البيطريين يعطى كل شخص حبة يومياً (Oseltamivir) لمدة 6 أسابيع ويفضل أيضاً إعطاء هذه الفئة مطعوم الأنفلونزا الموسمي. ■

أعراض المرض:

- في بداية المرض الأعراض السريرية لا يمكن تحديد أو تمييز المرض H5N1 أنفلونزا الطيور من إلتهاب (ili) لذلك يجب الاخذ بالمؤشرات الوبائية TOCC
- T : Travel history to Endemic Area(السفر إلى مناطق موبوءة).
- O: Occupation المهنة مثل مزارع، المختبر، عامل صحي.
- C: Contact history المخالطة : مخالطة طيور أو دواجن مصابة ميتة أو حية.
- C: clustering of infection تجمع الحالات.



التشريعات الخاصة بمرض أنفلونزا الطيور في الأردن وإجراءات الحجر البيطري

الدكتورة رندة العكشة

التشريعات الخاصة بمرض أنفلونزا الطيور في الأردن وإجراءات الحجر البيطري

د. رندة العكشة

التشريعات المعمول بها في الأردن تعتمد على :-

- مكتب الأوبئة الدولي . O.I.E
- هيئة الصحة العالمية .WHO
- منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة .FAO
- قانون وزارة الزراعة 2003 .Agricultural Law
- وتعليمات الحجر البيطري الأردني.
- وتعليمات الصحة الحيوانية.

تصنيف مكتب الأوبئة الدولي:

- مرض أنفلونزا الطيور مرض معدي
- Notifiable ويجب الإبلاغ عنه وله القدرة على إحداث 75% mortality

تقسم أنفلونزا الطيور إلى:

- Highly Pathogenic Notifiable Avian Influenza HPNAI
- Low Pathogenic Notifiable Avian Influenza LPNAI

HPAI FREE COUNTRY

- عندما لم تسجل حالات للمرض لثلاث سنوات ماضية
- مرور ستة أشهر بعد إعدام آخر حالة وفي بلد تطبق سياسة الإلتلاف Stamping Out Policy.

HPAI INFECTED COUNTRY

- مرور 21 يوماً بعد إثبات آخر حالة ووجود سياسة الإلتلاف والتعقيم.
 - مرور ستة أشهر على الشفاء أو الموت لآخر حالة إذا كانت سياسة الإلتلاف مطبقة.
- الأشياء التي تسجل خطورة عند الاستيراد:

- الطيور الداجنة والبرية
- طيور بعمر يوم واحد
- السائل المنوي للطيور البرية والداجنة
- لحوم الطيور الداجنة والبرية
- منتجات الدواجن التي تدخل في الصناعات أو الأعلاف
- منتجات الدواجن التي لم تعامل لقتل الفيروس

يحدد بناءً على : Notifiable Avian Influenza Status

- تحليل المخاطر لتحديد كل العوامل الخطرة والتي تسبب المرض.
- وجود نظام توعية في البلد لتحديد كل المعطيات.
- وجود نظام استقصاء ورصد وبائي لتحديد وجود المرض مع غياب الأعراض السريرية.
- تعد البلد أو المنطقة خالية من المرض عندما لم تسجل إصابات في ال 12 شهراً السابقة اعتماداً على الرصد الوبائي.

شروط الاستيراد للطيور الحية:

- عدم ظهور أعراض للمرض يوم الشحن.
- أن تكون الطيور مرباة في مناطق خالية منذ التفريخ أو 21 يوماً قبل الشحن.
- وجود نظام استقصاء ورصد وبائي 21 يوماً قبل الشحن.
- كتابة معلومات عن اللقاح وتاريخ التلقيح على الشهادة.

شروط الاستيراد للطيور الحية غير الدواجن:

- عدم ظهور أعراض للمرض يوم الشحن.
- أن تكون الطيور مرباة منذ الفقس أو 21 يوم قبل الشحن في مناطق خالية من المرض.
- خاضعة لفحص سيروولوجي 7-14 يوماً قبل الشحن.
- أن تنقل في صناديق نظيفة وجديدة.

شروط الاستيراد لطيور بعمر يوم واحد:

- أن تكون الدواجن مرباة في مناطق خالية من المرض.
- أن تكون الدواجن مرباة في مناطق خالية من المرض.
- أن تكون من قطعان أمهات خالية لمدة 21 يوم قبل الشحن.
- أن تحتوي الشهادة المعلومات الضرورية عن اللقاح.

شروط استيراد بيض التفريخ:

- أن يكون مصدر البيض من مناطق خالية من المرض.
- أن يكون من أمهات كانت مرباة في مناطق خالية من المرض لمدة 21 يوماً قبل الشحن وفي وقت جمع البيض.
- توضيح نوع اللقاح وتفاصيل استخدامه في الشهادة المرفقة.

شروط استيراد البيض للاستهلاك البشري:

- أن يكون البيض من مناطق خالية من المرض.
- أن يتم النقل في صناديق جديدة ونظيفة.

شروط الاستيراد لمنتجات البيض:

- أن يكون المنتج من بيض يطابق المواصفات الواردة في دستور الصحة الحيوانية
- شروط الاستيراد ضمن الشروط الخاصة الواردة في دستور الصحة الحيوانية
- وأن يكون قد عومل لدرجة تكفل القضاء على المسببات المرضية
- ألا يحصل تلوث للمنتج النهائي مع أي مصدر للعدوى

الاجراءات المتبعة في الأردن لدرء دخول المرض الى الأردن:

- تعليق الاستيراد أو المرور بطريق الترانزيت للطيور البرية والطيور المائية وطيور الزينة والحمام من كافة الدول.
- تعليق الاستيراد والمرور بطريق الترانزيت للدواجن ومنتجاتها من الدول الموبوءة بالمرض وأية دولة يظهر بها المرض مستقبلاً ويستثنى من ذلك المنتجات المعاملة حرارياً، أما استيراد الدواجن ومنتجاتها من الدول الخالية من المرض يتم دراسة كل طلب على حدة .
- التأكيد على المراكز الحدودية بعدم السماح بادخال لحوم الطيور والدواجن.
- عدم السماح بادخال الطيور مع المسافرين.
- منع كافة أشكال الصيد سواء كانت طيور برية أو مهاجرة.
- ضرورة تزويد مختبرات الثروة الحيوانية بعينات الدم والفضلات من الطيور المهاجرة وبالتنسيق مع الجمعية الملكية لحماية الطبيعة.
- السماح باستيراد الطيور بعمر يوم واحد من البلدان الخالية من المرض وضمن شروط خاصة.
- تقوم مديرية البيطرة بمتابعة الوضع والمستجدات على موقع OIE.

التوصيات:

- توعية الناس وعمل دورات تدريبية للأطباء والفنيين العاملين.
- وجود برامج سيطرة واضحة ومعلنة.
- وجود وحدة تنسيق في كل بلد مكون من اطباء بيطريين وبشريين مزودين بأحدث الأجهزة.
- وجود الصلاحية المطلقة لتطبيق سياسة الإتلاف في حالة وجود المرض وتوفير اللقاح اللازم.
- وجود نظام رصد وبائي متكامل.
- التعاون بين الدول ضرورة قصوى لدرء دخول المرض.
- وجوب توفر الدعم المادي والعاجل في حالة ظهور المرض.

الاستقصاء الوبائي الفيروسي و المصلي لمرض أنفلونزا الطيور

**ABU RUMMAN MOHAMMED – DVM - Head of Animal
pathology unit - Central Laboratories - MOA**

الاستقصاء الوبائي الفيروسي و المصلي لمرض أنفلونزا الطيور

ABU RUMMAN MOHAMMED

DVM

Head of Animal pathology unit

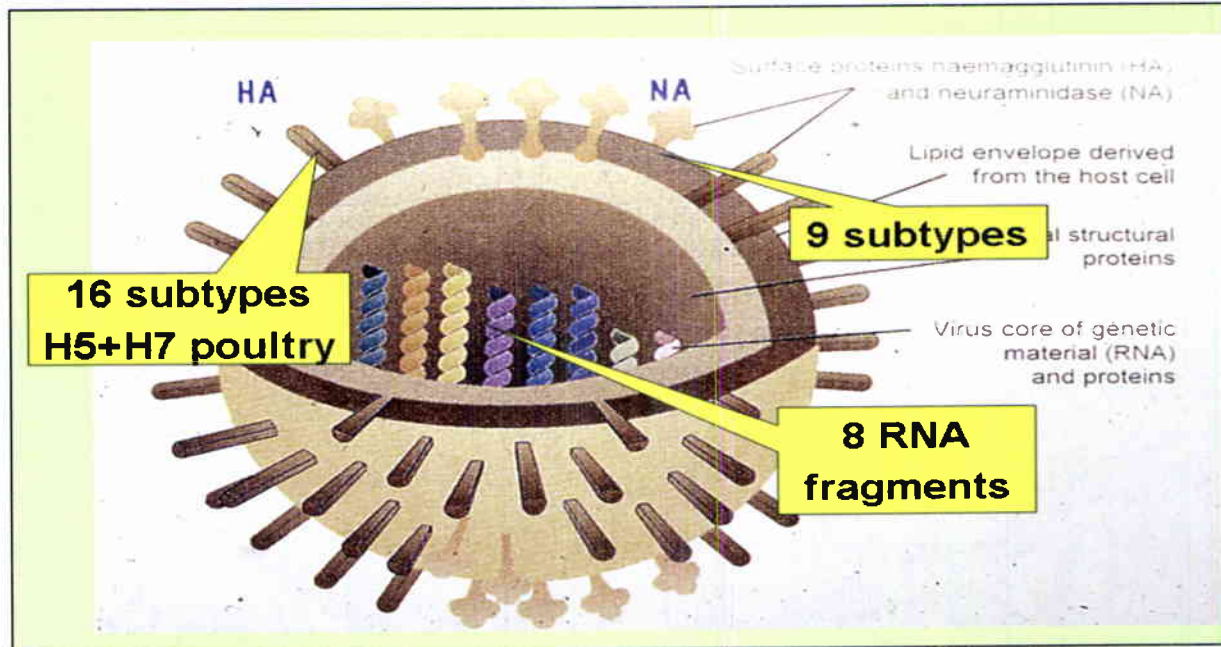
Central Laboratories

MOA

Definition AI

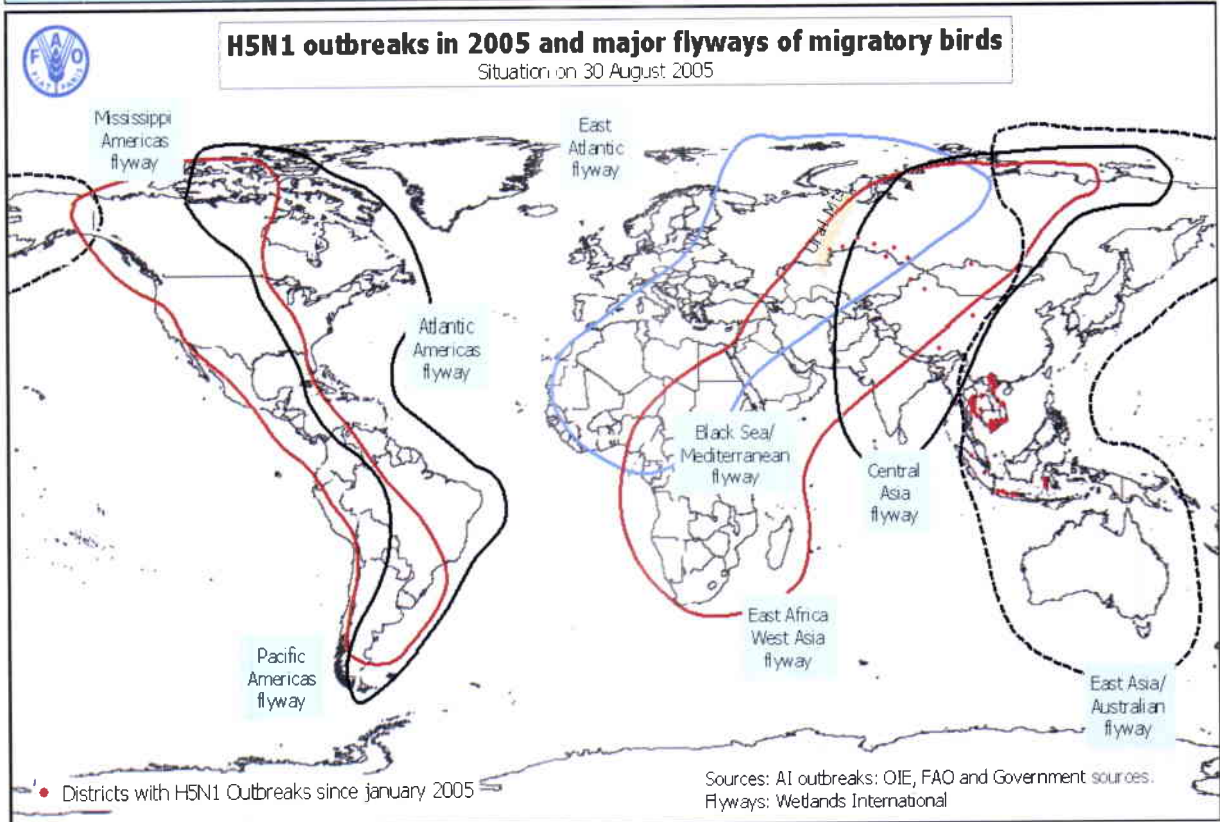
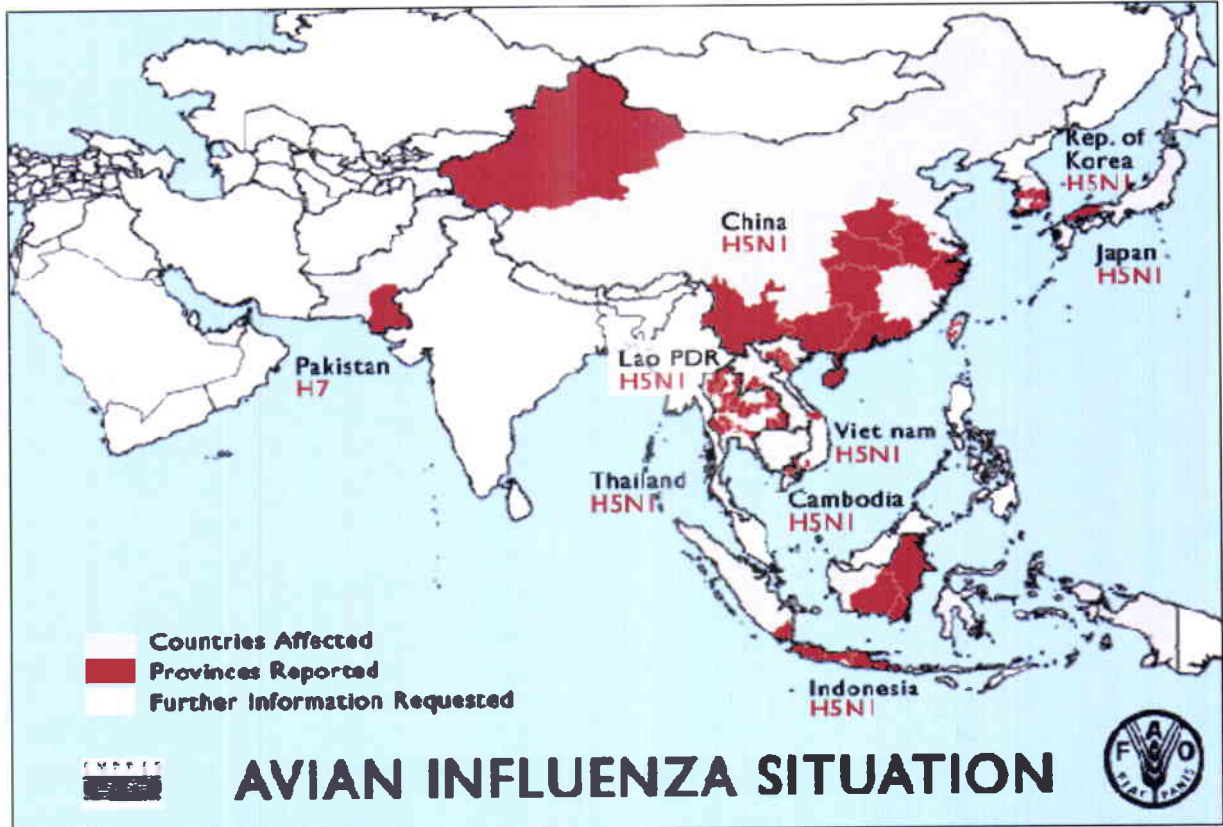
- Viral classification and genetic composition
- Family: Orthomyxoviridae
- Genus: Influenza
- Virions 80 to 120 nm in diameter
- May be filamentous
- Eight different segments of negative-stranded RNA; allows for genetic reassortments in single cells infected with more than one virus and may result in multiple strains that are different from the initial ones (Voyles 2002)
- Types: A, B, and C
- Type designation is based on the antigenic character of the M protein located in the virus envelope and the nucleoprotein within the virus particle.
- Influenza A virus causes human, swine, equine, avian, and marine mammal influenza and is the type associated with pandemic disease in humans.
- Influenza B virus causes disease in humans only.
- Influenza C virus causes a relatively mild illness in both humans and swine and occurs uncommonly.
- HPAI and LPAI are caused by influenza A viruses.
- The virus envelope glycoproteins have hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA) activity; these characteristics are used to subtype the A, B, and C viruses.
- For influenza A viruses, there are 16 different HA antigens (H1 to H16) and nine different NA antigens (N1 to N9).
- All 16 HA and 9 NA subtypes of influenza A can be found in avian populations; however, only subtypes H5 and H7 have caused HPAI.
- The H5 and H7 strains also are identifiable according to a nucleic acid sequence at the hemagglutinin cleavage site.

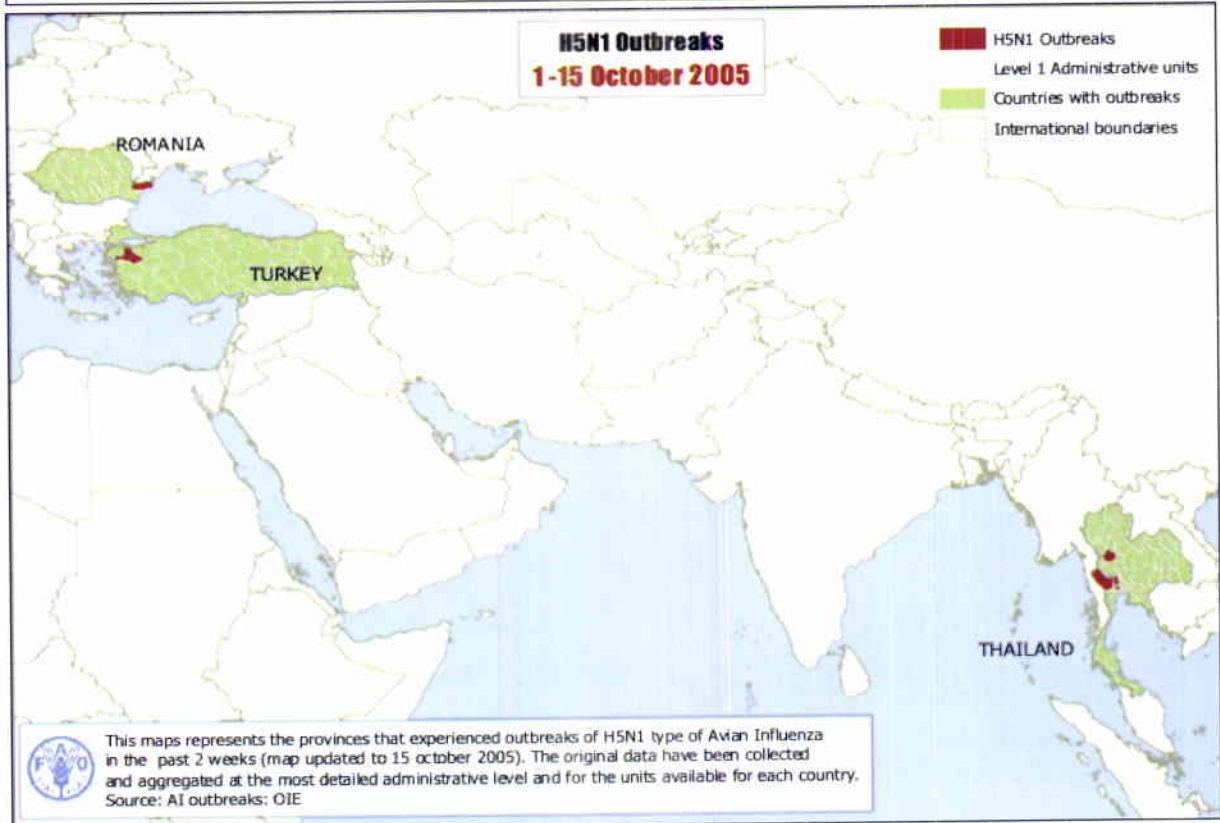
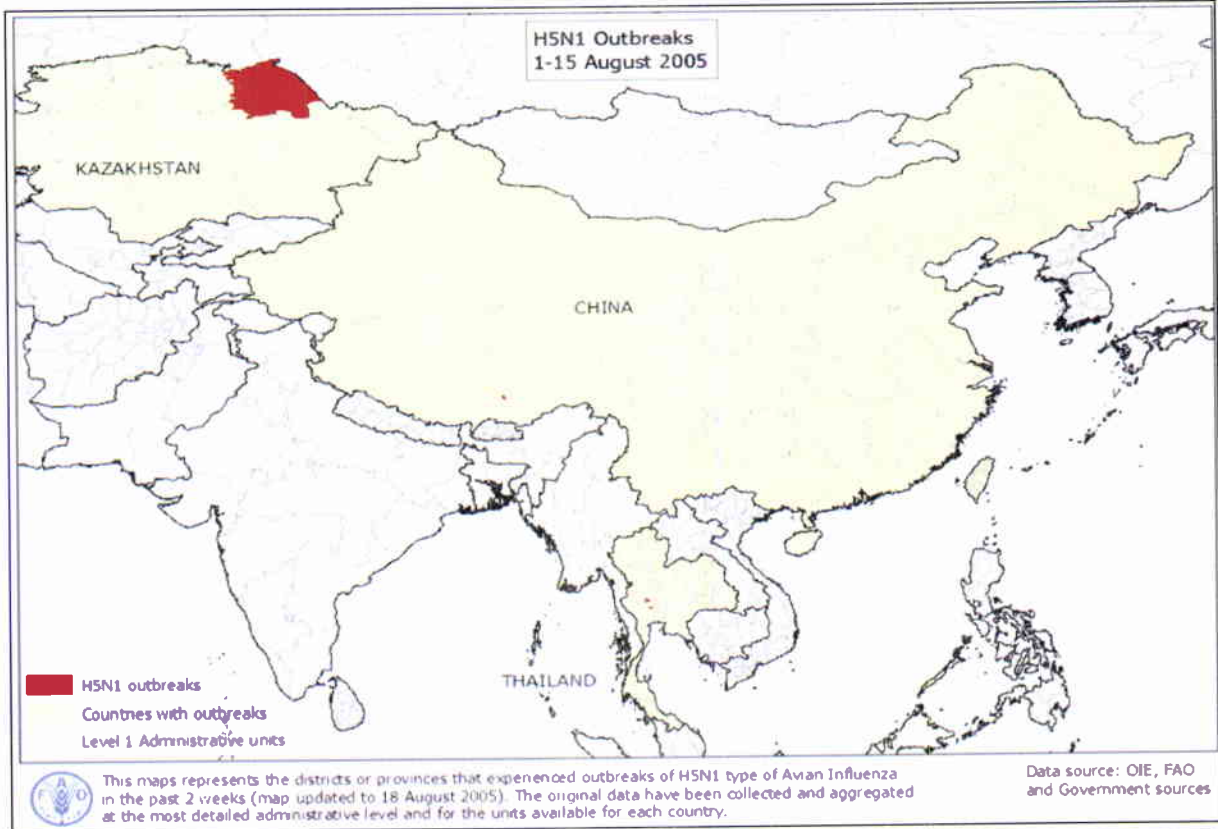
The virus



Epidemiology Transmission

- Routes of infection include: طرق الإصابة بالمرض
- Oral
- Conjunctival
- Respiratory
- Vertical transmission is not known to occur
- Common modes of infection include: الطرق الشائعة لانتقال الفيروس
- Direct transmission through secretions (feces, respiratory secretions) of infected birds
- Broken contaminated eggs in incubators infecting healthy chicks (OIE 2002)
- Movement of infected birds between flocks
- Fomites such as contaminated equipment, egg flats, feed trucks, and clothing and shoes of employees and service crews (Beard 1998)
- Contact with infected wild birds and waterfowl
- Fecal contamination of drinking water
- Garbage flies (suspected of transmitting the virus during the 1983-1984 epidemic in Pennsylvania) (Beard 1998)
- Airborne transmission if birds are in close proximity
- The disease is highly contagious. One gram of contaminated manure can contain enough HPAI virus to infect 1 million birds.





استقصاء المرض في الأردن:

- نهاية عام 2000 وبداية 2001 بدأت وزارة الزراعة بالاستقصاء عن مرض أنفلونزا الطيور رغم عدم وجود علامات مرضية، حوالي 750 عينة دم من مختلف مناطق المملكة والمسالخ.
- نصف هذه العينات وجدت ايجابية (الليزا).
- 2002 – 2003 بدأت محاولات العزل للفيروس و التأكد من فيروسات النيوكاسل المعزولة سابقاً.
- أول عزل للفيروس من الطيور في العالم كان في 1930 وتم تعريفه عام 1955.
- في الأردن تم عزل وتحديد فيروس أنفلونزا الطيور نوع H9N2 نهاية عام 2003 و الربع الأول من عام 2004 في المختبرات البيطرية بالأردن وجامعة العلوم والتكنولوجيا.
- 41 فيروساً (متنوعاً) من مختلف أنواع الطيور تم عزلها في قسم المختبرات البيطرية /مديرية البيطرة منذ بداية 2003 حتى 2003/12/17.
- تم التأكد من وجود 16 فيروس أنفلونزا منها.
- لوحظ وجود إصابات مشتركة بين الأنفلونزا و النيوكاسل.
- تم التأكد من عزل فيروس النيوكاسل لوحده أيضاً.
- أرسلت إلى مختبر مرجعي تم تأكيد 22 فيروساً لمرض أنفلونزا الطيور غير الممرض نوع H9N2 A/chicken/Jordan/554/2003/H9N2

الوضع الحالي:

• Passive surveillance:

- إحضار عينات مشتبه بها من قطعان الدواجن التي تعاني من نسبة نفوق عالية، انخفاض بيض، إصابة تنفسية شديدة

• Active surveillance:

- إحضار عينات من الطيور المائية و المهاجرة التي لا تظهر عليها علامات سريرية.

استنتاجات و توصيات:

الاستنتاجات:

- لم تسجل حتى هذه اللحظة فيروسات الأنفلونزا H5 و H7 بالأردن.
- الفيروس الموجود في الأردن هو من النوع H9N2.
- لدى وزارة الزراعة الإمكانات الكاملة في الوصول إلى أي حالة مشتبه بها في المملكة و التعامل معها وعزل الفيروس و تشخيصه.
- تم الاتفاق مع مختبرات عالمية لإرسال أي فيروسات مشتبه بها لتأكيد التشخيص.

توصيات:

- مراقبة قطعان الدواجن باستمرار و إحضار عينات للفحص.
- متابعة الطيور المهاجرة و البرية مع الجهات المختصة.
- التبليغ عن أي حالة مشتببه بها.
- التبليغ عن أي طيور غريبة في المنطقة وعدم الاقتراب منها.

كلمتا الافتتاح

كلمة

معالي الدكتور سالم اللوزي

المدير العام

للمنظمة العربية للتنمية الزراعية

**كلمة معالي
الدكتور سالم اللوزي
المدير العام
للمنظمة العربية للتنمية الزراعية
في حفل افتتاح أعمال الدورة التدريبية الإقليمية
في مجال تشخيص مرض أنفلونزا الطيور وطرق الوقاية منه ووضع
خطط احترازية لدرء أخطاره**

عمان - المملكة الأردنية الهاشمية

3 - 8 / 12 / 2005

بسم الله الرحمن الرحيم

معالي الدكتور عاكف الزعبي وزير الزراعة بالمملكة الأردنية الهاشمية، رئيس الجمعية العمومية
للمنظمة العربية للتنمية الزراعية وراعي الدورة.

الإخوة ممثلو الدول العربية الشقيقة المشاركون في هذه الدورة التدريبية .

الحضور الكريم :

السلام عليكم ورحمة الله تعالى وبركاته

يطيب لي كثيراً وفي مستهل هذه الكلمة ، ونحن نفتتح أعمال هذه الدورة التدريبية القومية المهمة، أن
أتوجه بخالص التهاني القلبية الصادقة، أصالة عن نفسي ونيابة عن أسرة المنظمة العربية للتنمية الزراعية،
إلى معالي الدكتور عاكف الزعبي وزير الزراعة بالمملكة الأردنية الهاشمية، على الثقة الملكية العالية في
شخصه الكريم، واختياره لتولي حقيبة وزارة الزراعة ، في هذه المرحلة المهمة التي تمر بها المملكة
الأردنية الهاشمية وأمتنا العربية، كما أرحب به رئيساً للجمعية العمومية للمنظمة العربية للتنمية الزراعية
الموقرة، سائلاً الله عز وجل أن يعينه ويوفقه للارتقاء بالعمل الزراعي في المملكة الأردنية الهاشمية،
وكذلك على نطاق أمتنا العربية الكبرى من خلال رئاسته للجمعية العمومية للمنظمة العربية للتنمية الزراعية
الموقرة.

كما أتوجه لأخي معالي الوزير بخالص الشكر والتقدير لموافقته الكريمة، وهو يباشر تولي مهام منصبه
الجديد، على شمول هذه الدورة التدريبية الهامة برعايته الكريمة وتقديم كل التسهيلات اللازمة لإنجاحها.
وأتوجه كذلك بخالص الشكر والتقدير إلى المملكة الأردنية الهاشمية ملكاً وحكومة وشعباً لاستضافتها
الكريمة لأعمال هذه الدورة التدريبية ، وللدعم الكريم الذي ظلت تقدمه للمنظمة العربية للتنمية الزراعية
للارتقاء بالعمل الزراعي العربي.

الحضور الكريم :

يأتي تنفيذ هذه الدورة التدريبية القومية المهمة في مجال تشخيص مرض أنفلونزا الطيور وطرق الوقاية منه ووضع خطط احترازية لدرء أخطاره، استشعاراً من المنظمة العربية للتنمية الزراعية بخطورة هذا المرض، بعد انتشاره في أجزاء كبيرة من القارة الآسيوية وبعض أجزاء من القارة الأوروبية، حيث ظهرت الإصابة بالمرض لدى الدجاج في عدد من دول آسيا وجنوبها الشرقي في نهاية العام 2003 ، مما أدى إلى نفوق أو التخلص من مائة مليون دجاجة ، الأمر الذي أصبح مهدداً خطيراً للثروة الداجنة في العالم بأسره، إضافة إلى الأمر الأكثر خطورة وهو انتقال هذا المرض من الطيور إلى الإنسان، حيث ظهرت أعداد من الإصابات البشرية في أجزاء متفرقة من العالم – وبحمد الله تعالى فان منطقتنا العربية لازالت خالية من هذا المرض الخطير.

لذا فقد أولت المنظمة العربية للتنمية الزراعية هذا الأمر أهمية قصوى، حيث قامت بوضع خطة احترازية عاجلة لتعريف الدول العربية بخطورة هذا المرض، ومن ضمن مكونات تلك الخطة تنفيذ هذه الدورة التدريبية القومية، التي نتشرف بافتتاحها اليوم ، والتي تهدف إلى إعداد كوادر فنية عربية مدربة في مجال التشخيص والإجراءات الوقائية والتوعية والإرشاد حول خطورة هذا المرض، بجانب تطوير القدرات الوطنية العربية في مجال المختبرات والكوادر البشرية، حيث تتمثل الوسيلة الفاعلة لحماية الإنسان من خطورة هذا المرض في كبح الفيروس في مصدره الحيواني، وذلك عن طريق اتخاذ جملة من التدابير من شأنها أن تقضي إلى تحسين البنيات التحتية الزراعية، وتحسين خطط التأهب والرقابة والتحذير المبكر عن المرض وانتشاره، والاتصالات والإعلام ، وتعزيز التعاون على المستوى الإقليمي والدولي، حيث قامت المنظمة العربية للتنمية الزراعية في هذا الصدد، وضمن تلك الخطة العاجلة، بتفعيل أو اصر التعاون والتنسيق مع المنظمات العالمية مثل منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة (الفاو) والمنظمة العالمية للصحة الحيوانية، ومنظمة الصحة العالمية، وذلك في إطار الإستراتيجية العالمية التي وضعتها المنظمات العالمية لمجابهة خطر أنفلونزا الطيور، وفقاً لما جاء في اجتماع الشركاء بشأن مرض أنفلونزا الطيور و وباء الأنفلونزا البشرية، الذي تم عقده بمدينة جنيف في سويسرا خلال الفترة 7 – 9 نوفمبر 2005 وشاركت فيه المنظمة العربية للتنمية الزراعية مشاركة فاعلة.

معالي الوزير .. الحضور الكريم :

إن مرض أنفلونزا الطيور قد أصبح في الفترة الأخيرة مسألة عالمية، تتطلب مجابته التزاماً سياسياً فوق العادة واستثمارات حيوية، وتعاوناً دولياً متناسقاً، ناهيك عن الإجراءات الصارمة على المستوى القطري. لذا فقد قامت المنظمة العربية للتنمية الزراعية بتقديم الدعم اللازم المتمثل في خدمات الدعم التقني لبعض الدول العربية، التي يمكن أن تهددها مخاطر الإصابة بهذا المرض. كما تقوم المنظمة ومن خلال وحدة الإنذار المبكر بها بتعزيز نظم الكشف المبكر والتنبؤ ورصد انتشار المرض، وتحركات الطيور

كلمة معالي
الدكتور عاكف الزعبي
وزير الزراعة
بالمملكة الأردنية الهاشمية
رئيس الجمعية العمومية
للمنظمة العربية للتنمية الزراعية وراعي الدورة
في حفل افتتاح أعمال الدورة التدريبية الإقليمية
في مجال تشخيص مرض أنفلونزا الطيور وطرق الوقاية منه ووضع
خطط احترازية لدرء أخطاره

عمان - المملكة الأردنية الهاشمية

2005/12/ 8 - 3

بسم الله الرحمن الرحيم
معالي الدكتور/ سالم اللوزي - المدير العام للمنظمة العربية للتنمية الزراعية
أصحاب المعالي والعطوفة والسعادة

السيدات والسادة الحضور

السلام عليكم ورحمة الله وبركاته

أرحب بالمشاركين من البلدان العربية في عمان عاصمة الأردن بلدكم الثاني بلد الخير والبركة والأمن
وأهلاً بكم.

السادة الحضور

تأتي هذه الدورة في ظل تفشي هذا الوباء في العديد من دول العالم، وقد أحدث أثراً بالغاً على قطاع
الثروة الحيوانية، وبخاصة قطاع الدواجن، والذي يشكل عنصراً مهماً في رفد البشرية في مجال الغذاء.
حيث أصبح قطاع الدواجن من أهم مصادر البروتين الغذائي للإنسان، فهو يشكل أكثر من 50% من
مصادر البروتين الحيواني في غذاء الإنسان بل وإن له أهمية كبيرة في دعم القطاعات الزراعية المختلفة.

الأخوات والإخوة الكرام

إن مما لا شك فيه أن هذا الوباء قد أحدث خسائر اقتصادية كبيرة في هذا القطاع في العديد من دول
العالم وعلى مراحل مختلفة. وتشير الدلائل إلى انخفاض نسبة استهلاك الدواجن ومنتجاتها في المجتمعات

المدنية، وركود بعض الأسواق العالمية بسبب الأثر النفسي الذي واكب اكتشاف بؤر مرضية في دول مختلفة من العالم، وكذلك التركيز الإعلامي العالمي على مرض أنفلونزا الطيور وخطورة انتقاله بين البشر. لقد أوضحت المنظمات العالمية المختصة مثل منظمة الصحة العالمية (WHO) ومنظمة الأغذية والزراعة الدولية (FAO) ومكتب الأوبئة الدولي (OIE) إلى ضرورة وضع الخطط الإستراتيجية، واتخاذ الإجراءات الاحترازية لمكافحة هذا الوباء والحد من انتشاره، والتقليل من خسائره، حيث تشير هذه الهيئات الدولية إلى أن منطقة الشرق الأوسط مهددة بالمرض بسبب الطيور المهاجرة والتي قد تحمل المرض، ومن هنا يأتي دور المنظمة العربية للتنمية الزراعية، والتي تعمل بشكل جاد للمساهمة في كل ما يثري قطاعي الزراعة والثروة الحيوانية من وسائل الدعم المستمر للتنمية في مختلف المجالات، ومن أهمها التدريب والتوعية.

ولقد قامت وزارة الزراعة في الأردن بوضع خطة تنفيذية لمكافحة هذا المرض بالتعاون مع وزارة الصحة، والجامعات الأردنية، وكافة الجهات المعنية، هذا بالإضافة إلى التعاون مع الدول المجاورة، والمنظمات العالمية، والعمل قائم على مكافحة هذا الوباء، والتقليل من خطورته على صحة الإنسان والحيوان.

إننا في الأردن نشمن جهود المنظمة العربية عالياً في عملها المتواصل لتنمية قطاع الزراعة في الوطن العربي. ومنها تنمية الموارد البشرية، وإشرافها على عقد ورشة عمل إقليمية حول دور القطاع الخاص في تطوير معاملات وبحوث ما بعد الحصاد لتعزيز الصادرات الزراعية العربية. أرحب بكم مرة أخرى ونتمنى لكم طيب الإقامة.

ونسأل الله أن يوفق الجميع إلى ما فيه الخير والسداد.
والسلام عليكم ورحمة الله وبركاته

Yousf123@hotmail.com	Tel: 0096899817722 Fax: 0096824694465	عُمان	18. د. يوسف سليمان الوهيبي
Sidik-ga3i@hotmail	Tel: 00218925037458 Fax: 00218214832123	ليبيا	19. د. الصديق بركة عبد السلام
-	Tel: 006637390	موريتانيا	20. د. محمد المختار ولد محمد مولود
Dahome-S@hotmail.com	Tel: 00960203117892	السعودية	21. د. عبد الرحمن سند الحصيني

التوصيات

التوصيات المقترحة
من أعمال الدورة التدريبية الإقليمية
في مجال تشخيص مرض أنفلونزا الطيور وطرق الوقاية منه ووضع
خطط احترازية لدرء أخطاره

عمان - المملكة الأردنية الهاشمية

2005/12/ 8 - 3

1. إعلان العالم العربي كدول خالية من مرض أنفلونزا الطيور شديد الضراوة.
2. إنشاء غرفة عمليات ومحنة إنذار مبكر في المنظمة العربية للتنمية الزراعية تعنى برصد أنفلونزا الطيور .
3. اعتماد المنظمة العربية للتنمية الزراعية إحدى المرجعيات الرسمية للمعلومات عن وضع العالم العربي بخصوص مرض أنفلونزا الطيور وذلك من خلال الاتصال المستمر مع المنظمة وإبلاغها بالمعلومات عن وضع المرض أولاً بأول.
4. إنشاء صندوق عربي في المنظمة العربية للتنمية الزراعية لمساعدة الدول في مكافحة مرض أنفلونزا الطيور شديد الضراوة على أن يشمل مستقبلاً الأمراض المشتركة الأخرى .
5. الطلب من المنظمة العربية للتنمية الزراعية لاعتماد إحدى الدول من أجل عمل مختبر مرجعي لتشخيص هذا المرض .
6. دعم برامج التوعية والإرشاد وحث المواطنين على تناول لحوم الدواجن ومنتجاتها وطمأنتهم على سلامتها من أنفلونزا الطيور .
7. تفعيل دور عمل المحاجر البيطرية من خلال إجراءات مشددة على إرساليات المواد الغذائية المستوردة والتي لها خطورة على الصحة العامة.
8. عدم السماح باستيراد الطيور الحية ومنتجاتها من الدول المصابة والتي يشتبه بوجود إصابة مرض أنفلونزا الطيور فيها .
9. تعيين ناطق إعلامي رسمي واحد في كل دولة من وزارة الزراعة وآخر من وزارة الصحة.
10. اعتماد مبدأ الشفافية في التبليغ عن المرض بين دول الجوار .
11. التعاون الإقليمي في وضع استراتيجية احترازية لمنع دخول المرض إلى المنطقة .
12. رفع مستوى المختبرات في الوطن العربي ومستوى العاملين في هذا المجال من خلال الدورات التدريبية .
13. استمرار بإجراء المسوحات الوبائية ودعم الأبحاث المشتركة بين الدول العربية .

ويرى المشاركون أن يترك الأمر للمنظمة العربية للتنمية الزراعية بالعمل على أخذ العديد من هذه التوصيات ضمن إعداد مشروع إقليمي يتضمن محاور خاصة بهذه التوصيات .

رقم الايداع 2006/242