

KARTONO MOHAMAD

# FLU BURUNG



Adapted from  
[www.InfluenzaReport.com](http://www.InfluenzaReport.com)  
by Bernd Sebastian Kamps,  
Christian Hoffmann,  
and Wolfgang Preiser

# 1. FLU BURUNG

Timm Harder, Ortrud Werner

## PENDAHULUAN

Penyakit influenza unggas (*avian influenza*), atau lebih dikenal sebagai “wabah flu burung”, pertama kali dilaporkan pada tahun 1878 sebagai wabah yang menjangkiti ayam dan burung di Italia (Perroncito, 1878), yang disebut juga sebagai “Penyakit Lombardia” mengikuti nama sebuah daerah lembah di hulu sungai Po. Meskipun di tahun 1901 Centanini dan Savonucci berhasil mengidentifikasi organisme mikro yang menjadi penyebab penyakit tersebut, baru di tahun 1955 Schafer dapat menunjukkan ciri-ciri organisme itu sebagai virus influenza A (Schafer, 1955). Dalam penjamu alami yang menjadi *reservoir* virus flu burung, yaitu burung-burung liar, infeksi yang terjadi biasanya berlangsung tanpa gejala (asimtomatik) karena virus influenza A itu dari jenis yang berpatogenisitas rendah dan hidup bersama secara seimbang dengan penjamu-penjamu tersebut (Webster, 1992, Alexander, 2000).

Ketika turunan (*strain*) virus influenza unggas berpatogenisitas rendah (*Low Pathogenic Avian Influenza Virus*, LPAIV) ditularkan dari unggas “reservoir” ke ternak unggas yang rentan, seperti ayam dan kalkun (sebuah pijakan untuk penularan lintas spesies!), pada umumnya hewan-hewan itu hanya menunjukkan gejala-gejala yang ringan. Tetapi ketika spesies unggas tersebut menjadi sebab dari terjadinya beberapa siklus penularan, turunan (*strain*) virus tersebut dapat mengalami serangkaian mutasi yang beradaptasi dengan penjamunya yang baru. Virus influenza A subtipe H5 dan H7 bukan saja mengalami fase adaptasi dengan penjamu tetapi dapat pula berubah secara meloncat melalui mutasi insersi menjadi bentuk yang sangat patogen (*Highly Pathogenic Avian Influenza Virus*, HPAIV), yang mampu menimbulkan penyakit sistemik yang ganas dan mematikan secara cepat. Virus jenis HPAI tersebut dapat muncul secara tidak terduga dan sebagai tipe yang sama sekali baru (*de novo*) dalam unggas yang terkena infeksi oleh progenitor LPAI dari jenis subtipe H5 dan H7.

Infeksi oleh virus HPAI pada unggas ditandai dengan gejala yang mendadak, berat dan berlangsung singkat, dengan mortalitas mendekati 100% pada spesies yang rentan. Akibat kerugian ekonomis yang sangat besar terhadap industri ternak unggas, HPAI mendapat perhatian yang sangat besar di kalangan kedokteran hewan dunia dan segera diberlakukan sebagai penyakit yang wajib segera dilaporkan kepada pihak yang berwenang. Karena potensinya untuk dapat menurunkan HPAIV, penyakit LPAI dari subtipe H5 dan H7 juga dikenakan wajib dilaporkan (OIE 2005). Sebelum tahun 1997, HPAI merupakan penyakit yang sangat jarang terjadi, dengan hanya ada 24 kejadian primer yang dicatat di seluruh dunia sejak tahun 1950-an (Lihat tabel 1).

Tetapi akhir-akhir ini influenza unggas memperoleh perhatian dunia ketika ditemukan ada *strain* (turunan) dari subtipe H5N1 yang sangat patogen, yang mungkin sudah muncul di China Selatan sebelum tahun 1997, menyerang ternak unggas di seluruh Asia Tenggara dan secara tidak terduga melintasi batas antar kelas (Perkins dan Swayne, 2003) ketika terjadi penularan dari burung ke mamalia

## 2 FLU BURUNG

(kucing, babi, manusia). Meskipun bukan merupakan kejadian pertama (Koopmans 2004, Hayden and Croisier 2005), sejumlah kasus infeksi pada manusia akhir-akhir ini, yang ditandai dengan gejala parah dan menimbulkan kematian telah menimbulkan kekhawatiran akan kemungkinan terjadinya pandemi infeksi virus *strain* H5N1 (Klempner dan Saphiro 2004; Webster 2006). Ada sederetan bukti – yang akan dibahas nanti – yang menunjukkan bahwa virus H5N1 telah mengalami peningkatan potensi patogenik pada beberapa spesies mamalia. Oleh karena itu dapat dipahami bahwa hal ini telah menimbulkan kekhawatiran umum di seluruh dunia (Kaye and Pringle 2005).

Tabel 1: Kejadian wabah influenza unggas yang sangat patogen di masa lalu di dunia

Tahun	Negara/Wilayah	Unggas peliharaan yang terkena	Strain
1959	Skotlandia	2 kelompok ayam (dilaporkan)	A/ayam/Skotlandia/59 (H5N1)
1963	Inggeris	29.000 ekor ternak kalkun	A/kalkun/Inggeris/63 (H7N3)
1966	Ontario (Kanada)	8.100 ekor ternak kalkun	A/kalkun/Ontario/7732/66 (H5N9)
1976	Victoria (Australia)	25.000 ayam petelur, 17.000 ayam broiler 16.000 bebek	A/ayam/Victoria/76 (H7N7)
1979	Jerman	1 kelompok yang terdiri dari 600.000 ayam, 80 ekor angsa	A/ayam/Jerman/79 (H7N7)
1979	Inggeris	3 perusahaan peternak kalkun (jumlah unggas yang terkena tidak dilaporkan)	A/kalkun/Inggeris/199/79 (H7N7)
1983-1985	Pennsylvania (AS)	17 juta unggas dalam 452 kelompok; sebagian besar ayam atau kalkun, dan beberapa burung puyuh dan burung liar	A/atam/Pennsylvania/1370/83 (H5N2)
1983	Irlandia	800 kalkun pedaging mati; 8640 kalkun, 28.020 ayam, 270.000 bebek dimusnahkan	A/kalkun/Irlandia/1378/83 (H5N8)
1985	Victoria (Australia)	24.000 perbenihan ayam broiler, 27.000 ayam petelur, 69.000 ayam broiler, 118.418 ayam dari berbagai jenis	A/ayam/Victoria/85 (H7N7)
1991	Inggeris	8.000 kalkun	A/kalkun/Inggeris/50-92/91 (H5N1)
1992	Victoria (Australia)	12.700 perbenihan broiler, 5.700 bebek	A/ayam/Victoria/1/92 (H7N3)
1994	Queensland (Australia)	22.000 ayam petelur	A/ayam/Queensland/667-6/94 (H7N3)
1994-1005	Meksiko	Data tentang jumlah unggas yang terkena tidak ada, 360 kelompok ayam dimusnahkan	A/ayam/Puebla/8623-607/94 (H5N2)
1994	Pakistan	3,2 juta ayam broiler dan perbenihan broiler	A/ayam/Pakistan/447/95 (H7N3)

1997	Hong Kong (China)	1,4 juta ayam dan sejumlah unggas peliharaan	A/ayam/Hong Kong/220/97 (H5N1)
1997	New South Wales (Australia)	128.000 benih ayam broiler, 33.000 ayam broiler, 261 emu	A/ayam/New South Wales /1651/97 (H7N4)
1997	Italia	Sekitar 6.000 ayam, kalkun, bebek, merpati, merak, dan berbagai unggas liar	A/ayam/Italia/330/97 (H5N2)
1992-2000	Italia <sup>*</sup>	413 peternakan, sekitar 14 juta unggas	A/kalkun/Italia/99 (H7N1)
2002-2005	Asia Tenggara <sup>*</sup>	China, Hong Kong, Indonesia, Jepang, Kampuchea, Laos, Malaysia, Korea, Thailand, Vietnam, diperkirakan 150 juta unggas	A/ayam/Asia Timur/2003-2005 (H5N1)
2002	Chile		A/ayam/Chile/2002 (H7N3)
2003	Belanda <sup>*</sup>	Belanda: 255 peternakan, 30 juta unggas Belgia: 8 peternakan, 3 juta unggas; Jerman: 1 peternakan, 80.000 ayam broiler	A/ayam/Belanda/2003 (H7N7)
2004	Kanada (B.C.) <sup>*</sup>	53 kelompok, 17 juta ayam	A/ayam/kanada-BC/2004 (H7N3)
2004	Amerika Serikat (TX)	6.600 ayam broiler	A/ayam/USA-TX/2004 (H5N2)
2004	Afrika Selatan	23.000 burung onta, 5000 ayam	A/burung onta/Afrika S/ 2004 (H5N2)

<sup>1</sup>Dimodifikasikan dari Capua dan Mutinelli, 2001

<sup>\*</sup>Wabah dengan penjaralan yang cukup luas mengenai berbagai peternakan, mengakibatkan kerugian ekonomi yang sangat besar. Sebagian besar wabah lainnya bersifat terbatas atau tidak menular dari peternakan yang (dilaporkan) terkena..

## VIRUS PENYEBAB

Virus influenza adalah partikel berselubung berbentuk bundar atau bulat panjang, merupakan genome RNA rangkaian tunggal dengan jumlah lipatan tersegmentasi sampai mencapai delapan lipatan, dan berpolaritas negatif. Virus influenza merupakan nama generik dalam keluarga *Orthomyxoviridae* dan diklasifikasikan dalam tipe A, B atau C berdasarkan perbedaan sifat antigenik dari *nucleoprotein* dan matrix proteinnya. Virus influenza unggas (*Avian Influenza Viruses*, AIV) termasuk tipe A. Telaahan yang sangat bagus mengenai struktur dan pola replikasi virus-virus influenza sudah dipublikasikan baru-baru ini (mis. Sidoronko dan Reichi 2005).

Determinan antigenik utama dari virus influenza A dan B adalah glikoprotein transmembran hemagglutinin (H atau HA) dan neuroaminidase (N atau NA), yang mampu memicu terjadinya respons imun dan respons yang spesifik terhadap subtype virus. Respons in seungguhnya bersifat protektif di dalam, tetapi

## 4 FLU BURUNG

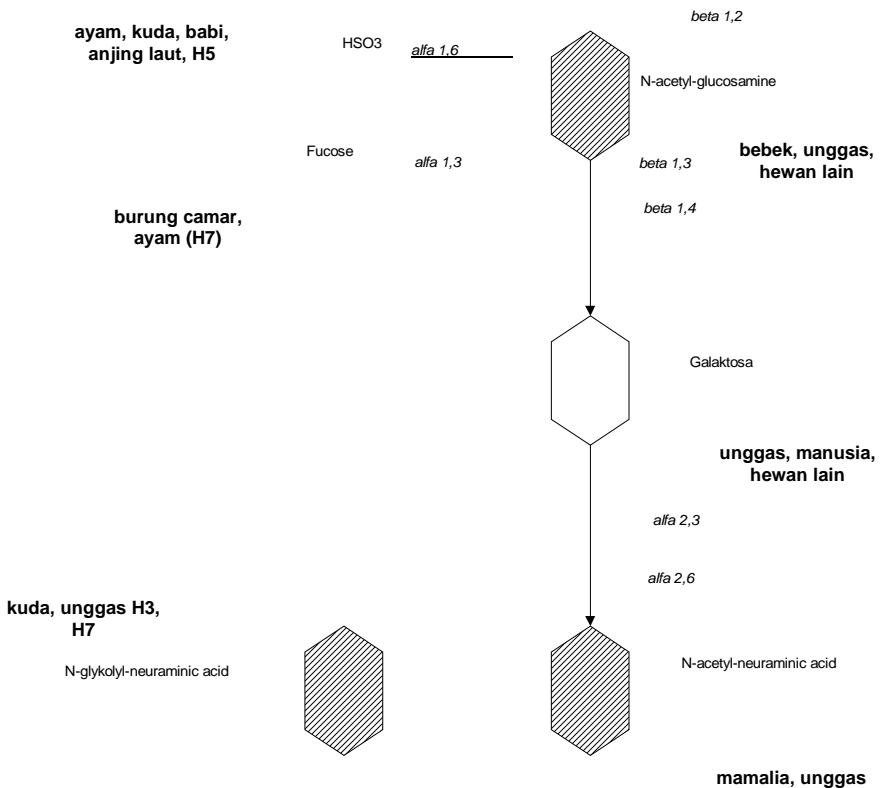
bersifat protektif parsial pada lintas, subtipe yang berbeda. Berdasarkan sifat antigenitas dari glikoprotein-glikoprotein tersebut, saat ini virus influenza dikelompokkan ke dalam enambelas subtipe H (H1-H16) dan sembilan N (N1-N9). Kelompok-kelompok tersebut ditetapkan ketika dilakukan analisis filogenetik terhadap nukleotida dan penetapan urutan (*sequences*) gen-gen HA dan NA melalui cara deduksi asam amino (Fouchier 2005).

Cara pemberian nama yang sesuai nomenklatur konvensional untuk isolat virus influenza harus mengesankan tipe virus influenza tersebut, spesies penjamu (tidak perlu disebut kalau berasal dari manusia), lokasi geografis, nomor seri, dan tahun isolasi. Untuk virus influenza tipe A, subtipe hemagglutinin dan neuroamidase ditulis dalam kurung. Salah satu induk strain virus influenza unggas dalam wabah H5N1 garis Asia yang terjadi akhir-akhir ini, berhasil diisolasi dari seekor angsa dari provinsi Guangdong, China. Oleh karena itu ia diberi nama A/angsa/Guangdong/1/96 (H5N1) (Xu 1999). Sedangkan isolat yang berasal dari kasus infeksi H5N1 garis Asia pada manusia yang pertama kali terdokumentasikan terjadi di Hong Kong (Claas 1998), dan dengan demikian disebut sebagai A/HK/156/97 (H5N1).

Hemagglutinin, sebuah protein yang mengalami glikosilasi dan asilasi (*glycosylated and acylated protein*) terdiri dari 562-566 asam amino yang terikat dalam sampul virus. Kepala membran distalnya yang berbentuk bulat, daerah eksternal yang berbentuk seperti tombol dan berkaitan dengan kemampuannya melekat pada reseptor sel, terdiri dari oligosakarida yang menyalurkan derivat asam neuroaminic (Watowich 1994). Daerah eksternal (*exodomain*) dari glikoprotein transmembran yang kedua, neuroamidase (NA), melakukan aktivitas enzimatis sialolitik (*sialolytic enzymatic activity*) dan melepaskan progeni virus yang terjebak di permukaan sel yang terinfeksi sewaktu dilepaskan. Fungsi ini mencegah tertumpuknya virus dan mungkin juga memudahkan gerakan virus dalam selaput lendir dari jaringan epitel yang menjadi sasaran. Selanjutnya virus pun akan menempel ke sasaran (Matrosivich 2004a). Ini membuat neuroamidase merupakan sasaran yang menarik bagi obat antivirus (Garman and Laver 2004). Kegiatan yang terpadu dan terkoordinasi spesies glikoprotein antagonistik HA dan NA dari *strain* virus tertentu merupakan hal yang penting bagi proses pelekatan dan pelepasan virion (Wagner 2002).

Pelekatan ke protein permukaan sel dari virion-virion virus influenza A tercapai melalui glikoprotein HA virus tertrimerisasi yang matang (*mature trimerised viral HA glycoprotein*). Stratifikasi pelekatan tersebut didasarkan pada pengenalan spesies asam sialik (N-asetil- atau N-asam glikolneuraminat) ujung akhir yang jelas, tipe hubungan glikosidik ke galaktosa paling ujung ( $\alpha$ 2-3 atau  $\alpha$ 2-6) dan susunan fragmen yang terletak lebih dalam dari sialil-oligosakarida yang terdapat di permukaan sel (Herrier 1995, Gambaryan 2005). Sebuah varietas dari sialil-oligosakarida yang lain diekspresikan dengan pembatasan (restriksi) ke jaringan dan asal spesies di dalam penjamu lain dari virus influenza. Penyesuaian (adaptasi) glikoprotein HA maupun NA virus ke jenis reseptor yang khas (spesifik) dari spesies penjamu tertentu merupakan prasyarat bagi terjadinya replikasi yang efisien (Ito 1999, Banks 2001, Mastrovich 1999+2001, Suzuki 2000, Gambaryan 2004). Ini berarti terjadi perubahan bentuk unit pengikat dari protein HA setelah terjadi penularan antar spesies (Gambaryan 2006). Bagan mekanistik dari berbagai tipe reseptor disajikan dalam Gambar 1. Virus influenza unggas biasanya menunjukkan afinitas tinggi terhadap asam sialik yang terkait dengan  $\alpha$ 2-3

karena unsur ini merupakan tipe reseptor yang paling dominan di jaringan epitel endodermik (usus, paru-paru) pada unggas yang menjadi sasaran virus-virus tersebut (Gambaryan 2005a, Kim 2005). Sebaliknya, virus influenza yang beradaptasi pada manusia terutama mencapai residu terkait 2-6 (*2-6 linked residues*) yang mendominasi sel-sel epitel tanpa silia (*non-ciliated*) dalam saluran pernafasan manusia. Sifat-sifat dasar reseptor seperti ini menjelaskan sebagian dari sistem pertahanan suatu spesies, yang membuat penularan influenza unggas ke manusia tidak mudah terjadi (Suzuki 2000, Suzuki 2005). Tetapi akhir-akhir ini ditemukan ada sejumlah sel epitel berbulu detar (*ciliated cells*) dalam trakhea manusia yang juga memiliki konjugat glikoprotein serupa reseptor unggas dengan densitas yang rendah (Matrosovich 2004b), dan juga dijumpai adanya sel-sel ayam yang membawa reseptor sialil yang serupa dengan yang ada pada manusia dengan konsentrasi yang rendah (Kim 2005). Hal ini mungkin dapat menjelaskan mengapa manusia tidak sepenuhnya kebal terhadap infeksi virus influenza unggas *strain* tertentu (Beare and Webster 1991). Pada babi dan juga burung balam, kedua jenis reseptor tersebut dijumpai dalam densitas yang lebih tinggi yang membuat kedua hewan ini mempunyai potensi untuk menjadi tempat pencampuran bagi *strain* virus unggas dan manusia (Kida 1994, Ito 1998, Scholtissek 1998, Peiris 2001, Perez 2003, Wan and Perez 2005).



Gambar 1. Bagan sifat-sifat dasar reseptor virus influenza A (berdasarkan data Gambaryan 2005)

## 6 FLU BURUNG

Setelah berhasil melekat pada reseptor yang sesuai, virion masuk dan menyatu ke dalam sebuah ruang endosom melalui mekanisme yang tergantung dan tidak tergantung kepada *clathrin* (Rust 2004). Dalam ruang ini virus tersebut mengalami degradasi dengan cara menyatukan membran virus dengan membran endosom: dimediasi oleh pemindahan proton melalui terowongan protein dari matrix-2 (M2) virus, pada nilai pH di endosom sekitar 5,0. Selanjutnya akan terjadi serangkaian penataan ulang protein matrix-1 (M1) dan kompleks glikoprotein homotrimerik HA. Sebagai hasilnya, terbuka (*exposed*) sebuah bidang (*domain*) yang sangat lipofilik dan fusogenik dari setiap monomer HA yang masuk ke dalam membran endolisomal, dan dengan demikian memulai terjadinya fusi antara membran virus dengan membran lisomal (Haque 2005, Wagner 2005). Berikutnya, kedelapan segmen RNA genomik dari virus, yang terbungkus dalam lapisan pelindung dari protein (*ribonucleoprotein complex*, RNP) nukleokapsid (N), dilepaskan ke dalam sitoplasma. Di sini mereka disalurkan ke nukleus untuk melakukan transkripsi mRNA virus dan replikasi RNA genomik melalui proses yang rumit yang secara cermat (Jw: *njilimet*) diatur oleh faktor virus dan faktor sel (Whitaker 1996). Polimerase yang dependen terhadap RNA (RdRp) dibentuk oleh sebuah kompleks (gabungan) dari PB1, PB2 dan protein PA virus, dan memerlukan RNA (RNP) yang terbungkus (*encapsidated RNA (RNPs)*) untuk tugas ini. Setelah terjadi translasi protein virus dan perangkaian nukleokapsid yang membawa RNA genomik yang sudah ter-replikasi, virion-virion progeni tumbuh dari membran sel yang di dalamnya sudah dimasukkan glikoprotein virus sebelumnya. Penataan antara nukleokapsid berbentuk lonjong dan protein pembungkus virus dimediasi oleh protein matrix-1 virus (M1) yang membentuk struktur serupa cangkang tepat di bawah pembungkus virus. Reproduksi virus di dalam sel yang mudah menerimanya berlangsung cepat (kurang dari sepuluh jam) dan dengan proses yang efisien, asalkan konstelasi gen yang “optimal” tersedia di sana (Rott 1979, Neumann 2004).

Akibat aktivitas RdRp virus yang mudah mengalami kekeliruan, terjadi mutasi dengan kecepatan tinggi, yaitu  $\geq 5 \times 10^{-5}$  perubahan nukleotida per nukleotida dan juga terjadi percepatan siklus replikasi. Dengan demikian terjadi hampir satu pertukaran nukleotida per genom per replikasi di antara virus-virus influenza (Drake 1993). Kalau ada tekanan selektif (misalnya antibodi yang menetralkan, ikatan reseptor yang tidak optimal, atau obat antiviral) yang bekerja selama proses replikasi virus dalam penjamu atau dalam populasi, dapat terjadi ada mutan-mutan dengan keunggulan selektif (mis. lepas dari proses netralisasi, membentuk unit pengikat reseptor baru) dan kemudian menjadi varian yang dominan dalam *quasi*-spesies virus di dalam tubuh penjamu atau dalam populasi. Jika determinan antigenik dari glikoprotein HA dan NA membran dipengaruhi oleh mekanisme yang dipicu kekebalan, proses (gradual) tersebut disebut sebagai *antigenic drift* (Fergusson 2003).

Sebaliknya, *antigenic shift* menunjukkan adanya perubahan mendadak dan mendalam dalam determinan antigenik, yaitu pertukaran subtipe H dan/atau N, di dalam satu siklus tunggal replikasi. Hal ini terjadi dalam sebuah sel yang secara bersamaan terinfeksi oleh dua atau lebih virus influenza A dari subtipe yang berbeda. Karena distribusi segmen genomik virus yang sudah ter-replikasi ke dalam progeni yang baru tumbuh berlangsung tanpa tergantung kepada subtipe asal dari tiap segmen itu, dapat muncul progeni yang berkemampuan untuk bereplikasi yang

membawa informasi genetik dari virus induk yang berbeda-beda (disebut sebagai *reassortants*) (Webster and Hulse 2004, WHO 2005). Sementara virus penyebab wabah influenza pada manusia yang terjadi di tahun 1957 (H2N2) dan 1968 (H3N2) secara jelas muncul dari percampuran (*reassortment*) antara virus manusia dan virus unggas, virus penyebab “Flu Spanyol” di tahun 1918 semata-mata berasal dari unggas (Belshe 2005).

## PENJAMU ALAMI

Burung-burung air yang liar, terutama yang termasuk dalam orde *Anseriformis* (bebek dan angsa) dan *Charadriiformis* (burung camar dan burung-burung pantai), adalah pembawa (*carrier*) seluruh varietas sub tipe dari virus influenza A, dan oleh karenanya, sangat mungkin merupakan penampung (*reservoir*) alami untuk semua jenis virus influenza (Webster 1992, Fouchier 2003, Krauss 2004, Widjaja 2004). Sementara semua spesies burung dianggap sebagai rentan terinfeksi, beberapa spesies unggas domestik – ayam, kalkun, balam, puyuh dan merak – diketahui terutama rentan terhadap sekuele (lanjutan) dari infeksi virus influenza.

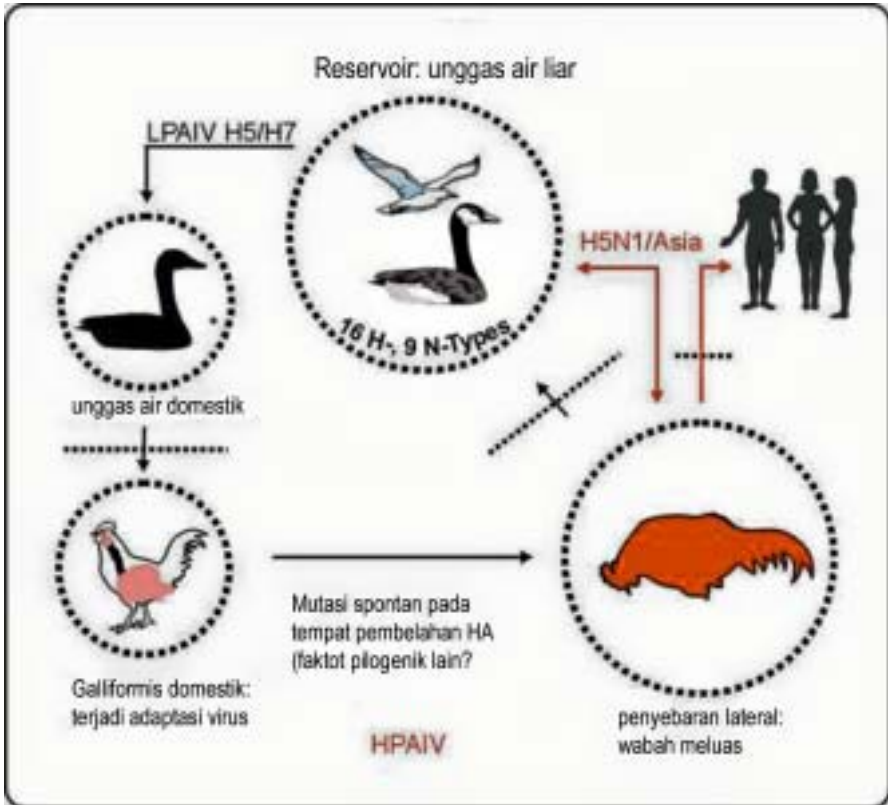
Virus-virus influenza A unggas biasanya tidak menimbulkan penyakit pada penjamu alami mereka. Sebaliknya, virus-virus tersebut tetap dalam suatu keadaan stasis yang evolusioner, yang secara molekuler ditandai dengan rendahnya rasio mt/S (*non synonymous vs. synonymous*) yang menunjukkan adanya evolusi pemurnian (Gorman 1992, Taubenberger 2005). Antara penjamu dengan virus agaknya terjadi saling toleransi yang seimbang, yang secara klinis ditunjukkan dengan tidak adanya penyakit dan replikasi virus secara efisien. Sejumlah besar virus, sampai sebanyak  $10^{8,7}$  x 50% dosis infeksi (*egg-infective dose*) (EID<sub>50</sub>) per gram tinja, dapat dikeluarkan (Webster 1978). Jika virus tersebut menular ke spesies unggas yang rentan, dapat timbul gejala-gejala sakit yang – kalau ada -- biasanya bersifat ringan. Virus dari fenotipe seperti ini disebut sebagai berpatogenisitas rendah (LPAIV) dan, pada umumnya, hanya mengakibatkan terjadinya penurunan produksi telur yang bersifat ringan dan sementara dalam unggas petelur, atau menurunkan penambahan berat badan dalam unggas pedaging (Capua and Minelli 2001). Tetapi *strain-strain* dari sub tipe H5 dan H7 berpotensi untuk mengalami mutasi menjadi bentuk yang sangat patogen setelah mengalami perpindahan dan adaptasi terhadap penjamu yang baru. Kelahiran bentuk yang sangat patogen dari H5 dan H7 atau sub tipe yang lain tidak pernah dijumpai dalam unggas liar (Webster 1998). Oleh karena itu, orang dapat mengambil kesimpulan bahwa bentuk yang sangat patogen tersebut sebenarnya merupakan hasil perbuatan manusia juga, akibat kelakuan manusia yang mempengaruhi keseimbangan sistem alami.

Sekali fenotip HPAIV tumbuh dalam unggas domestik, mereka akan dapat ditularkan secara horisontal dari unggas ternak kembali ke burung liar. Kerentanan burung liar terhadap penyakit yang ditimbulkan oleh HPAIV sangat bervariasi tergantung kepada spesies dan umur unggas, serta *strain* virusnya. Sampai pada munculnya virus ganas (HPAIV) garis H5N1 di Asia, limpahan dari HPAIV ke populasi burung liar hanya terjadi secara sporadik dan terbatas pada suatu daerah saja, kecuali satu yaitu pada kematian sekelompok *sterna* (sejenis camar) di Afrika Selatan pada tahun 1961 (Becker 1966), sehingga sebegitu jauh unggas liar secara epidemiologik tidak dianggap mempunyai peranan penting dalam penyebaran HPAIV (Swayne and Suarez 2000). Pandangan ini kini berubah secara fundamental



## 8 FLU BURUNG

sejak awal 2005, ketika terjadi wabah virus ganas (HPAIV) yang terkait dengan garis H5N1 Asia pada ribuan burung air di cagar alam Danau Qinghai di barat laut China (Chen 2005, Lu 2005). Akibat kejadian ini, ditemukan adanya penyebaran lebih lanjut ke arah Eropa selama tahun 2005 (OIE 2005). Rincian proses peristiwa tersebut serta akibatnya digambarkan di bawah ini.



Gambar 2: Bagan patogenesis dan epidemiologi influenza unggas

LPAIV = Low Pathogenic Avian Influenza Virus (Virus influenza unggas berpatogenisitas rendah); HPAIV = High Pathogenic Avian Influenza Virus (Virus influenza unggas yang sangat patogen); HA = protein hemagglutinin

Garis terputus-putus dengan panah menunjukkan penghalang (barrier) spesies

## PATOGENESIS HPAI

Patogenesis sebagai sifat umum virus dalam virus influenza A merupakan bakat pilogenik dan sangat tergantung kepada sebuah konstelasi gen yang 'optimal' yang mempengaruhi antara lain tropisme (reaksi ke arah atau menjauhi stimulus) dari jaringan dan penjamu, efektivitas replikasi dan mekanisme penghindaran imunitas (*immune evasion mechanism*). Selain itu faktor spesifik pada tiap spesies berperan juga terhadap hasil suatu infeksi, yang terjadi setelah penularan antar spesies, dan karenanya tidak dapat diduga sebelumnya. Bentuk influenza unggas yang sangat patogen sampai saat ini secara eksklusif ditimbulkan oleh subtype H5

dan H7. Tetapi dalam kenyataan hanya sebagian kecil sub tipe H5 dan H7 yang menunjukkan biotipe yang sangat patogen (Swayne and Suarez 2000). Biasanya virus-virus H5 dan H7 bertahan stabil dalam penjamu alaminya dalam bentuk yang berpatogenisitas rendah. Dari reservoir ini virus dapat ditularkan melalui berbagai jalan (lihat bawah) ke kawanan unggas ternak. Setelah masa sirkulasi yang bervariasi dan tidak pasti (dan barangkali juga beradaptasi) dalam populasi unggas yang rentan, virus-virus tersebut dapat secara meloncat mengalami mutasi menjadi bentuk yang sangat patogen (Rohm 1995).

Penelitian melalui pengurutan (*sequencing*) nukleotida telah menunjukkan bahwa sebagian besar HPAIV mempunyai kesamaan sifat dalam gen HA-nya yang dapat bekerja, dalam unggas ternak, sebagai penanda keganasan (virulensi) (Webster 1992, Senne 1996, Perdue 1997, Steinhauer 1999, Perdue and Suarez 2000).

Untuk mencapai infektivitas, virion influenza A harus menyatukan protein HA yang telah mengalami proses endoproteolitik dari sebuah perkusor HA<sub>0</sub> ke sebuah belahan HA<sub>1,2</sub> yang terikat disulfida (Chen 1998). Ujung-N dari sub-unit HA<sub>2</sub> yang baru saja terbentuk membawa peptida fusogenik, yang terdiri dari kawasan (domain) yang sangat lipofilik (Skehel 2001). Domain ini sangat vital diperlukan selama proses fusi antara membran virus dan membran lisosomal karena ia akan mengawali proses penetrasi segmen genomik virus ke dalam sitoplasma sel penjamu. Tempat pembelahan HA dari virus berpatogenisitas rendah terdri dari dua asam amino esensial pada posisi -1/-4 (H5) dan -1/-3 (H7) (Wood 1993). Tempat-tempat tersebut dapat dijangkau oleh protease serupa tripsin yang spesifik untuk tiap jaringan yang terutama muncul di permukaan epitel saluran pernafasan dan pencernaan. Oleh karena itu replikasi LPAIV yang paling efisien diyakini terjadi di dua tempat tersebut, setidaknya di dalam tubuh penjamu alami mereka. Sebaliknya tempat pembelahan virus HPAI biasanya mengandung asam amino esensial tambahan (arginin dan/atau lysine) yang membuat ia dapat diproses untuk menjadi protease serupa subtilisin yang spesifik untuk sekuensi konsensus minimal dari -R-X-K/R-R (Horimoto 1994, Rott 1995). Protease jenis ini (mis. furin, konvertease proprotein) terdapat aktif dalam praktis setiap jaringan di seluruh tubuh. Oleh karena itu virus yang membawa mutasi-mutasi tersebut mempunyai kelebihan dalam bereplikasi secara sistemik tanpa ada hambatan. Proses ini telah didokumentasikan di lapangan pada beberapa kejadian. Di Itali, misalnya, sebuah virus LPAI H7N1 telah beredar selama beberapa bulan dalam suatu populasi ayam dan kalkun sebelum sebuah virus HPAI H7N1, yang terbedakan hanya dari perkusornya pada tempat pembelahan polibasiknya, di bulan Desember 1999 muncul dan menyebabkan wabah yang menghancurkan (Capus 2000).

Telah menjadi hipotesis bahwa gen HA dari sub tipe H5 dan H7 menampung struktur RNA sekunder yang jelas yang memudahkan terjadinya mutasi insersional (*codon duplication*) melalui mekanisme penyalinan ulang dari unit polimerase virus pada bentangan sekuensi yang kaya akan purin yang mengubah kode tempat pembelahan endoproteolitik dari protein-protein HA tersebut (Garcia 1996, Perdue 1997). Hal ini, dan barangkali juga mekanisme yang lain, seperti misalnya substitusi nukleotida atau rekombinasi intersegmental (Suarez 2004, Pasick 2005), dapat mengakibatkan terjadinya penyatuan residu asam amino esensial tambahan. Yang terakhir itu sudah dibuktikan secara eksperimental melalui pembentukan HPAIV dari perkusor-perkusor LPAIV setelah terjadi penyaluran berulang baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dengan cara mutagenesis yang

diarahkan (*site-directed mutagenesis*) ( Li 1990, Walker and Kawaoka 1993, Horimoto and Kawaoka 1995, Ito 2001). Sebaliknya, pembuangan tempat pembelahan polibasik melalui *reverse genetics* memperkuat fenotipe HPAI (Tian 2005).

Tetapi ada juga *strain* virus yang antara kode sekuensi nukleotida pada tempat pembelahan HA dan fenotipe-nya tidak cocok seperti seperti yang telah diperkirakan: sebuah H7N3 HPAIV dari Chile yang muncul melalui rekombinasi intersegmental menunjukkan residu asam amino esensial hanya pada posisi -1, -4 dan -6 (Suarez 2004). Contoh-contoh yang setara juga terdapat pada virus garis H5 (Kawaoka 1984). Di sisi lain, sebuah isolat H5N2 dari Texas terbukti membawa sekuensi konsensus tempat pembelahan HPAIV, tetapi secara klinis diklasifikasikan sebagai LPAI (Lee 2005). Data-data tersebut menekankan kembali sifat poligenik dan rumnit dari patogenisitas virus influenza.

Untunglah bahwa kelahiran fenotipe HPAI di lapangan nampaknya merupakan hal yang jarang terjadi. Selama jangka waktu limapuluh tahun terakhir, di seluruh dunia hanya terjadi sebanyak 24 kali wabah HPAI primer yang diakibatkan oleh HPAIV, yang agaknya secara *de novo* muncul dengan cara demikian (Tabel 1).

Lebih dari itu, HPAIV terbukti dapat menginfeksi mamalia, dan khususnya manusia. Hal ini terutama nampak pada H5N1 garis Asia (WHO 2005). Patogenisitas yang tergantung pada penjamu dari HPAIV H5N1 terhadap mamalia telah diteliti pada beberapa spesies model: tikus (Lu 1999, Li 2005a), *ferret* (sejenis kucing pemburu) (Zitzow 2002, Govorkova 2005), monyet *cynomolgous* (monyet pemakan kepiting) (Rimmelzwaan 2001) dan babi (Choi 2005). Hasil infeksiya tergantung pada *strain* virus dan spesies penjamu. *Ferret* menunjukkan patogenisitas serupa pada manusia secara lebih baik dibanding dengan tikus (Maines 2005).

Sejumlah penanda genetik yang diyakini terlibat dalam patogenisitas telah ditemukan pada berbagai segmen dari genotipe Z pada H5N1 (Tabel 2). Di antaranya yang banyak menarik perhatian adalah mekanisme interferensi dengan mekanisme pertahanan dari penjamu, misalnya sistem interferon, melalui produk gen NS-1. Secara eksperimental telah dibuktikan melalui *reverse genetics* bahwa protein NS-1 dari beberapa *strain* H5N1 yang membawa asam glutamat pada posisi 92 mampu menghindari efek antivirus dari interferon dan faktor-alfa nekrosis tumor, yang pada akhirnya menuju ke replikasi yang diperkuat dalam, dan berkurangnya pembuangan dari, penjamu yang terinfeksi (Seo 2002+2004). Selain itu, kerusakan yang dimediasi kekebalan (*immune-mediated damage*) yang diakibatkan oleh gangguan yang termidiasi NS-1 dari jaringan sitokin, ikut berperan terhadap sebagian dari kerusakan paru-paru (Cheung 2002, Lipatov 2005). Tetapi tidak satupun dari mutasi tersebut (Tabel 2) yang merepresentasikan persyaratan yang sebenarnya untuk timbulnya patogenisitas pada mamalia (Lipatov 2004). Oleh karena itu konstelasi gen yang optimal, sampai batas tertentu, agaknya telah mendorong spesifikan patotipe melalui cara yang tergantung pada penjamu (*host-dependent*) dalam mamalia (Lipatov 2004).

Tabel 2. Sepintas tentang lokus genomik yang dilaporkan terlibat dalam peningkatan patogenisitas virus H5N1 garis Asia yang sangat patogen pada mamalia. virus H5N1 garis Asia yang sangat patogen pada mamalia.

Gen, Protein	Mutasi	Efek	Rujukan
HA	Tempat pembelaahan polybasic endo-proteolytic	Menguntungkan untuk penyebaran sistemik dan replikasi (unggas ternak, mamalia)	Berbagai rujukan
NA	Penghapusan 19-25 aa pada daerah tangkai (stalk region)	Adaptasi pertumbuhan dalam ayam dan kalkun (?)	Matrosovich 1999, Giannecchini 2006
PB2	627K	Replikasi sistemik yang diperkuat dalam tikus	Mastrosovich 1999, Giannecchini 2006
	701N	Patogenisitas meningkat dalam tikus	Li 2005
PB-1	13P, 678N	Aktivitas polimertase meningkat:	
NP	319K	menguntungkan untuk proses awal adaptasi yang spesifik untuk spesies?	Gabriel 2005
NS-1	92E	Mempermudah terlepasnya respon imun yang ada, berkurangnya pembuangan virus pada babi	Seo 2004

## GAMBARAN KLINIS

Setelah masa tunas yang biasanya berlangsung selama beberapa hari (jarang sampai 21 hari), tergantung pada karakteristik isolat, dosis inokulum, spesies, dan usia unggas, gambaran klinis influenza unggas pada burung bervariasi dan gejalanya sering tidak spesifik (Elbers 2005). Oleh karena itu tidak mungkin untuk menegakkan diagnosis hanya berdasarkan gambaran klinis.

Gejala-gejala yang terjadi setelah terinfeksi oleh AIV berpatogenesis rendah mungkin tidak terlalu jelas, seperti bulu-bulu yang kusut, produksi telur yang secara transien menurun atau berat badan menurun yang disertai sedikit gangguan pernafasan (Capua and Mutinelli 2001). Beberapa *strain* berpatogenesis rendah (LP) seperti misalnya *strain* H9N2 dari garis Asia, teradaptasi sehingga menghasilkan replikasi yang efisien dalam unggas ternak, dapat menimbulkan gejala-gejala yang lebih nyata dan juga mengakibatkan kematian secara signifikan (Bano 2003, Li 2005).

Dalam bentuknya yang sangat patogen, penyakit yang terjadi pada ayam dan kalkun ditandai dengan serangan yang mendadak dengan gejala yang hebat serta kematian yang mendekati 100% dalam jangka waktu 48 jam (Swayne and Suarez 2000). Penyebaran dalam kelompok tergantung bentuk pemeliharaan: dalam

kelompok yang dilepas di tempat yang kotor dan terjadi hubungan langsung serta pencampuran dengan hewan lain, penyebaran infeksi berlangsung lebih cepat daripada yang dipelihara dalam kandang, tetapi masih juga diperlukan beberapa hari untuk terjadinya penularan yang sempurna (Capua 2000). Seringkali hanya sebagian kandang saja yang terkena. Banyak unggas yang mati tanpa gejala-gejala awal sehingga kadang-kadang pada mulanya orang menduga telah terjadi keracunan (Nakatami 2005). Patut dicatat bahwa satu isolat virus HPAI tertentu dapat menyebabkan penyakit yang serius pada satu spesies unggas tertentu tetapi tidak pada spesies yang lain: pada pasar unggas hidup di Hong Kong sebelum terjadi pemusnahan di tahun 1997, 20% dari ayam terkena tetapi hanya 2,5% bebek dan angsa yang mengidap HPAIV H5N1 sedangkan spesies ayam yang lain, betet dan kakatua tidak dijumpai adanya virus pada pemeriksaan dan hanya ayam yang menunjukkan gejala-gejala klinis (Shortridge 1998).

Dalam perusahaan peternakan unggas yang besar, terjadinya penurunan konsumsi air dan makanan yang progresif dan dalam waktu singkat, dapat menjadi tanda akan adanya penyakit sistemik pada kawanan unggas ternak. Pada unggas petelur, terhentinya produksi telur sangat nyata. Secara individual, unggas yang terkena HPAI sering hanya menunjukkan apati dan tidak banyak bergerak (imobilitas) (Kwon 2005). Pembengkakan nampak pada daerah kepala yang tidak ditumbuhi bulu, terjadi sianosis pada jengger, gelambir dan kaki, diare dengan kotoran berwarna kehijauan, dan nampak susah bernafas, dapat dijumpai meskipun tidak selalu (inkonsisten). Pada unggas petelur, pada mulanya telur yang dihasilkan berkulit lembek, tetapi kemudian produksi telur berhenti secara cepat sejalan dengan perkembangan penyakit (Elbers 2005). Gejala-gejala sistem saraf termasuk tremaor, tortikolis, dan ataxia mendominasi gambaran klinis pada spesies yang tidak begitu rentan seperti bebek, angsa, dan jenis burung onta (Kwon 2005). Sewaktu terjadi wabah HPAI di Saxonia, Jerman, pada tahun 1979, nampak angsa-angsa berenang berputar-putar dalam lingkaran yang sempit secara kompulsif di kolam. Ini merupakan tanda-tanda pertama yang nampak nyata yang membuat orang mencurigai adanya HPAI (influenza unggas yang sangat patogen).

Gambaran klinis infeksi influenza unggas pada manusia akan dibahas secara rinci dalam bab yang berjudul 'Gambaran Klinis Influenza Manusia',

## PATOLOGI

### HPAI (Influenza Unggas Patogenisitas Rendah)

Kerusakan jaringan (lesi) yang terjadi bervariasi tergantung kepada *strain* virus dan spesies serta umur penjamu. Pada umumnya, hanya kalkun dan ayam yang menunjukkan terjadinya perubahan mikroskopik yang besar terutama dengan *strain* yang sudah beradaptasi dengan penjamu ini (Capua and Mutinelli 2001). Pada kalkun, terjadi sinusitis, trakheitis dan aissacculitis, meskipun kemungkinan ada juga peranan infeksi bakteri sekunder. Pernah juga dilaporkan terjadinya pankreatitis pada kalkun. Pada ayam, yang paling sering dijumpai adalah radang ringan di saluran pernafasan. Selain itu, lesi juga terjadi pada organ reproduktif (ovarium, saluran telur, peritonitis kuning telur) dari unggas petelur.

## HPAI (Influenza Unggas Patogenisitas Tinggi)

Perubahan patologik dan histopatologik yang hebat pada HPAI menunjukkan ketergantungan yang serupa dengan yang nampak pada gambaran klinis. Ada empat kelas perubahan patologik yang dipostulasikan (Perkins and Swayne 2003).

(i) Bentuk perakut (kematian terjadi dalam waktu 24-36 jam setelah infeksi, terutama terlihat pada beberapa spesies galliformis) dan akut dari penyakit ini tidak menunjukkan terjadinya perubahan patologik yang besar; terjadi hidroperikardium yang tidak jela, kongesti usus yang ringan dan adakalanya dijumpai perdarahan petekhial pada selaput serosa mesenteris dan perikardium meskipun tidak selalu (Mutinelli 2003a, Jones and Swayne 2004). Ayam yang terinfeksi oleh H5N1 garis Asia adakalanya menunjukkan adanya bercak-bercak hemorrhagik dan dijumpai lendir di trakhea dalam jumlah yang signifikan (Elbers 2004). Dapat juga dijumpai pembengkakan serosa (*serous exudation*) dalam rongga-rongga tubuh dan paru-paru. Bintik-bintik perdarahan di mukosa proventrikulus, yang sering disebut-sebut dalam buku teks di masa lalu, secara khusus dijumpai pada unggas yang terinfeksi H5N1 garis Asia (Elbers 2004). Berbagai lesi histologik bersama-sama dengan antigen virus dapat dideteksi di berbagai organ (Mo 1997). Pertama-tama virus ditemukan di sel endotelial. Berikutnya sel-sel yang terinfeksi oleh virus dijumpai di miokardium, kelenjar adrenal dan pankreas. Neuron dan juga sel glia di otak juga terinfeksi. Secara patogenesis, diduga perjalanan penyakitnya serupa dengan infeksi virus endoteliotropik lainnya, ketika aktivasi leukosit dan endotel mengakibatkan pelepasan sitokin secara sistemik dan tidak terkoordinasi dan menjadi predisposisi kegagalan jantung-paru dan kegagalan multiorgan (Feldmann 2000, Klenk 2005).

(ii) Pada hewan yang gejala-gejala awal muncul sangat lambat dan penyakit berlangsung lama, gejala-gejala neurologik dan, secara histologik, terjadi lesi non-suppuratif di otak mendominasi gambaran klinis (Perkins and Swayne 2002a, Kwon 2005). Tetapi virus juga dapat ditemukan pada organ-organ lainnya. Perjalanan penyakit semacam ini pernah diuraikan terjadi pada angsa, bebek, emu dan spesies lain yang secara eksperimental diinfeksi dengan HPAI *strain* H5N1 garis Asia. Pada unggas petelur, peradangan dapat ditemukan di kandung telur, saluran telur, dan setelah folikel pecah, terjadi peradangan yang disebut sebagai peritonitis kuning telur.

(iii) Pada bebek, burung camar dan burung gereja, dijumpai replikasi virus yang terbatas. Unggas-unggas ini menunjukkan terjadinya pneumonia interstisial yang ringan, radang kantung udara dan adakalanya miokarditis limfositik dan histiositik (Perkins and Swayne 2002a, 2003).

(iv) Dalam percobaan yang dilaporkan oleh Perkins dan Swayne (2003), burung dara dan walet terbukti kebal terhadap infeksi H5N1. Meskipun demikian, Werner *et al* (belum dipublikasikan) berhasil memicu terjadinya gangguan neurologik yang berkepanjangan akibat adanya ensefalitis non-suppuratif (Klopfleisch 2006), pada 5/16 burung dara dengan menggunakan isolat HPAI H5N1 baru dari Indonesia.

## DIAGNOSIS DIFERENSIAL

Penyakit-penyakit berikut ini harus dipertimbangkan sebagai diagnosis diferensial karena kemampuan mereka untuk menyebabkan penyakit secara

## 14 FLU BURUNG

mendadak disertai angka kematian yang tinggi atau terjadi hemostasis di jengger atau gelambirnya:

- Penyakit Newcastle velogenik
- Laringotrakheitis menular (pada ayam)
- Wabah (*plague*) pada bebek
- Keracunan akut
- Kholera akut (Pasteurellosis) pada kawan an unggas
- Selulitis bakterial pada jengger dan gelambir

Bentuk HPAI yang tidak begitu parah dapat lebih membingungkan lagi. Oleh karena itu pemeriksaan laboratorium diagnostik sangat penting sebelum menentukan tindakan berikutnya (Elbers 2005).

## PEMERIKSAAN LABORATORIK

### Pengambilan spesimen

Spesimen untuk pemeriksaan virus influenza unggas harus diambil dari beberapa bangkai segar dan dari unggas yang sakit dalam satu kawan an (*flock*). Idealnya, pengambilan sampel yang baik harus dilandasi metoda statistik yang benar dan diagnosis ditegakkan berdasarkan kawan an (*on flock basis*). Sewaktu mengambil sampel dari burung yang diduga terkena HPAI, standar keamanan harus dipatuhi agar petugas tidak terpapar pada HPAIV yang berpotensi menular ke manusia (*zoonanthropnotic*)(Bridges2002). Untuk itu CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) Amerika Serikat sudah mengeluarkan panduan (CDC 2005). Demikian pula OSHA (*Occupational Safety & Haealth Administration*) (OSHA 2005).

Untuk pemeriksaan virologik, pasa umumnya usapan yang diambil dari kloaka dan orofarinx memungkinkan dilakukannya pemeriksaan laboratorik yang lebih baik. Bahan yang diperoleh melalui usapan ini perlu dicampur dengan 2-3 ml aliquot dari medium pembawa yang isotonik dan steril yang mengandung tambahan antibiotika dan sumber protein (mis. 0,5% [berat/volume] albumin serum sapi, sampai 10% serum sapi atau suatu infusi otak-jantung).

Pada otopsi, yang dilakukan dalam lingkungan yang aman dan menghindari kemungkinan terjadinya penyebaran penyakit (lihat atas), spesimen yang belum diawetkan dari otak, trakhea/paru-paru, limpa dan isi usus disisihkan untuk dilakukan isolasi virus.

Untuk kepentingan pemeriksaan serologik, diambil sampel darah langsung dari unggas yang terkena. Jumlah sampel yang dikumpulkan harus memenuhi syarat untuk deteksi dengan 95% interval konfidens untuk sebuah parameter dengan prevalensi 30%.

### Pengangkutan spesimen

Sediaan usap, jaringan dan darah sampel harus diangkut dalam pendingin tetapi jangan samapi membeku. Jika diperkirakan pengangkutan tertunda di tempat transit selama lebih dari 48 jam, spesimen tersebut harus dibekukan dan diangkut dengan ditambahi es kering. Dalam segala hal, peraturan keamanan pengangkutan (mis.

ketentuan IATA) harus secara cermat dipatuhi untuk mencegah penyebaran penyakit dan terpaparnya petugas secara tidak disengaja selama perjalanan. Sebaiknya sebelum mengirim, laboratorium diagnostik yang dituju sudah dihubungi, bahkan lebih baik lagi sejak sampel akan diambil.

## Jenjang diagnostik

### Deteksi Langsung infeksi AIV (virus influenza unggas)

Pada dasarnya ada dua jalur (paralel) diagnosis yang ditujukan untuk (i) isolasi dan penentuan subtipe virus dengan metoda klasik (lihat Panduan OIE 2005) dan (ii) deteksi molekuler dan ciri-ciri genom virus.

(i) Secara konvensional, virus influenza unggas diisolasi melalui inokulasi telur ayam berembryo umur 9-11 hari dengan menggunakan sediaan hapus atau homogenat jaringan, biasanya melalui kantung khorioallantoik (Woolcock 2001). Tergantung kepada patotipe virus yang dimasukkan, embryo mungkin mati mungkin pula tidak dalam masa lima hari observasi dan biasanya tidak ditemukan adanya lesi, baik pada embryo maupun pada membran allantois (Mutinelli 2003b). Telur-telur yang diinokulasi dengan bahan yang mengandung HPAIV biasanya mati dalam waktu 48 jam. Adanya zat hemaglutinik dapat dideteksi dalam cairan allantois yang diambil. Hemaglutinasi (HA) adalah tehnik pengujian yang tidak sensitif karena memerlukan paling sedikit  $10^{6,0}$  partikel per mililiter. Jika konsentrasi virus dalam inokulum hanya sedikit, mungkin diperlukan sampai dua kali lagi melewati telur berembryo untuk beberapa *strain* LPAIV, supaya diperoleh jumlah virus yang cukup untuk dapat dideteksi oleh uji HA. Dalam hal HPAIV, pelintasan kedua pada telur berembryo dengan menggunakan inokulum yang sudah diencerkan dapat membawa hasil yang lebih baik untuk menghasilkan zat hemaglutinasi yang optimal.

Isolat zat peng-hemaglutinasi secara antigenik dikenali melalui uji penghambatan hemaglutinasi (*haemagglutination inhibition*- HI) dengan menggunakan anti serum (mono-) spesifik terhadap subtipe 16 H dan, sebagai kontrol, dilakukan uji serupa terhadap beberapa tipe paramyxovirus unggas yang juga menunjukkan aktivitas hemaglutinasi. Subtipe NA dapat ditentukan melalui uji penghambatan neuroamidase (*neuroamidase inhibition assays*), yang juga memerlukan serum yang spesifik untuk subtipe (Aymard 2003). Jika ditemukan isolat dari garis H5 atau H7, maka indeks patogenisitas intravena (IVPI) mereka harus ditentukan untuk membedakan antara biotipe LP (berpatogenisitas rendah) dan HP (berpatogenisitas tinggi) (Allan 1997). Hal ini dilakukan dengan menginokulasi sepuluh ekor anak ayam berumur 6 minggu dengan isolat yang ditumbuhkan dalam telur (0,1 ml dari cairan allantoik yang mengandung titer HA lebih besar dari 1 dalam 16, dan diencerkan 1: 10). Anak-anak ayam tersebut diobservasi selama sepuluh hari untuk melihat gejala-gejala klinik yang timbul. Jika hasil yang ditemukan adalah lebih besar daripada 1,2, ia diintegrasikan ke dalam indeks yang menunjukkan adanya virus influenza A unggas berpatogenisitas tinggi (HPAI). Cara lain adalah, jika paling sedikit ada tujuh dari sepuluh (75%) anak ayam yang mati selama masa observasi, maka berarti yang dijumpai adalah isolat HPAI.



Prosedur klasik yang diuraikan di atas dapat digunakan untuk mendiagnosis influenza A unggas berpatogenitas tinggi hanya dalam waktu lima hari, tetapi diperlukan waktu lebih dari dua minggu untuk memastikan ada tidaknya virus influenza unggas (AIV). Selain itu untuk kepastian ada tidaknya AIV, sebagai prasyarat diperlukan juga alat-alat diagnostik berkualitas tinggi (telur-telur SPF, dan antiserum spesifik untuk subtipe H dan N) serta tenaga yang terlatih. Saat ini belum ada cara pembiakan isolat AIV yang dapat mencapai sensitivitas setinggi telur ayam berembryo (Seo 2001).

(ii) Cara pendekatan yang lebih cepat, terutama jika diperlukan kepastian tidak adanya infeksi, adalah dengan menggunakan tehnik molekuler, yang harus mengikuti cara berjenjang (*cascade style*): pertama-tama dilakukan pendeteksian adanya RNA yang spesifik dari virus influenza A melalui reaksi rantai polimerase transkripsi terbalik (*reverse transcription-polymerase chain reaction*, RT-PCR) yang mencari fragmen gen M, segmen genom virus influenza yang paling terkonservasi (Fouchier 2000, Spackman 2002), atau gen nukleokapsid (Dybkaer 2004). Jika ditemukan hasil positif: dilakukan RT-PCR yang mengamplifikasi fragmen gen hemaglutinin dari subtipe H5 dan H7, untuk mendeteksi adanya virus influenza unggas yang wajib dilaporkan (Dybkaer 2004, Spackman 2002). Jika hal ini juga positif, dilakukan diagnosis molekuler untuk mengenali patotipe (LP atau HP) setelah dilakukan pengurutan (*sequencing*) fragmen gen HA yang menyelubungi tempat pembelahan endoproteolitik. Isolat yang menampilkan berbagai asam amino esensial diklasifikasikan sebagai HPAI. Kini diancang teknik PCR dan pengenalan DNA untuk mendeteksi *strain* H5N1 garis Asia (Collins 2002, Payungporn 2004, Ng 2005). Subtipe yang bukan H5/H7 dapat diidentifikasi melalui RT-PCR yang baku yang diikuti dengan analisis urutan sub-unit HA-2 (Phipps 2004). Ada juga uji awal untuk tiap subtipe NA. Pengenalan virus secara lengkap mungkin dapat diselesaikan dalam waktu tiga hari, terutama jika digunakan teknik PCR sesaat (*real time PCR techniques*) (Perdue 2003, Lee and Suarez 2004). Tetapi saat ini juga sedang dikembangkan keping DNA (*DNA chips*) yang akan dapat merampingkan penentuan tipe virus influenza unggas (Li 2001, Kessler 2005). Diagnosis penyingkir (*exclusion diagnosis*) dapat ditetapkan dalam tempo satu hari.

Kelemahan diagnosis molekuler adalah pada biaya yang harus keluar untuk membeli peralatan dan bahan habis pakai, meskipun jika dapat disediakan akan mengurangi kebutuhan tenaga yang diperlukan untuk analisis dan dalam waktu yang lebih singkat dibanding dengan diagnosis dengan cara isolasi virus melalui telur. Tetapi bukan rahasia lagi bahwa tiap PCR atau reaksi hibridisasi, berbeda dengan isolasi virus dalam telur, mengandung ketidak pastian yang terkait dengan adanya mutasi spesifik isoolat tertentu di tempat penggabungan dari ujung (*probes*) virus yang dapat membuat hasil pemeriksaan jadi negatif palsu.

Oleh karena itu, gabungan antara uji molekuler (mis. untuk keperluan penapisan) dan cara-cara klasik (mis. untuk mengenali sifat-sifat isolat dan memastikan diagnosis dari sebuah) dapat mengimbangi kelemahan-kelemahan yang dimiliki oleh kedua cara tersebut.

Beberapa cara pebgujian cepat (*rapid assay*) telah dikembangkan untuk mendeteksi adanya antigen virus dalam sediaan hapus jaringan dan potongan-potongan beku dengan menggunakan imunofluoresensi, atau dengan *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) dan sistem alur lateral dengan keping celup (*dip-*

*stick lateral flow system*) terhadap sediaan cairan usap. Sebegitu jauh, teknik ini masih kurang peka dibanding isolasi virus dalam telur ataupun PCR, sehingga masih sulit untuk digunakan sebagai penentu diagnosis yang secara sah mengikat, terutama dalam kasus indeks (Davison 1998, Cattoli 2004). Penggunaan pena uji yang dilakukan di bidang kedokteran hewan masih dalam tahap dini dan memerlukan pengembangan lebih lanjut.

### **Deteksi infeksi influenza unggas secara tidak langsung**

Pemeriksaan serologik berbasis satu kawanan hewan berguna untuk keperluan penapisan (Beck 2003). Untuk mendeteksi adanya antibodi spesifik virus influenza unggas (AIV) dalam sampel serum dari kawanan unggas, atau kuning telur dalam hal unggas petelur, uji penghambatan hemaglutinin (HI assay) dengan menggunakan antigen subtipe tertentu masih merupakan cara yang terbaik. Adanya antibodi yang spesifik untuk jenis (virus influenza tipe A) terhadap protein nukleokapsid dapat juga dideteksi dengan imunopresipitasi dalam agar dan dengan ELISA (Meulemans 1987, Snyder 1985, Jin 2004). Format ELISA kompetitif memungkinkan silakukannya pemeriksaan serum-serum dari semua spesies unggas, tanpa tergantung kepada adanya konjugat yang spesifik untuk spesies (Shafer 1998, Zhou 1998). Penggunaan format ELISA untuk mendeteksi antibodi spesifik H7 sudah pernah dilaporkan (Sala 2003), tetapi saat ini belum ada *assay* serupa untuk mendeteksi adanya antibodi yang spesifik untuk H5 dalam serum unggas.

Pembentukan antibodi yang spesifik untuk subtipe dalam serum tergantung kepada sifat-sifat *strain* virus dan, terutama, kepada spesies penjamu. Dalam unggas (ayam) peliharaan, adanya antibodi spesifik-AIV dapat dideteksi secara meyakinkan pada minggu kedua setelah terpapar; dan antibodi dalam kuning telur terdeteksi beberapa hari kemudian (Beck 2003). Produksi dan terdeteksinya antibodi dalam spesies *Anatidae* jauh lebih bervariasi (Suarez and Schultz-Cherry 2000).

## **PENULARAN**

### **Penuaran antara sesama unggas**

Lingkar hidup virus influenza unggas jenis patogenisitas rendah dalam unggas air liar secara genetik adalah stabil (Webster 1992). Siklus infeksi antar unggas terjadi melalui rantai oral-fekal (mulut-tinja). Selain menular melalui kontak langsung dari penjamu ke penjamu, air dan benda-benda lain yang tercemar virus merupakan jalur penularan tidak langsung yang juga penting. Ini berbeda dengan penularan virus influenza pada mamalia (manusia, babi, kuda) yang terutama terjadi melalui percikan yang tersembur dari hidung dan mulut. Pada unggas, titer ekskresi tertinggi yang pernah dilaporkan mencapai  $10^{8,7}$  x 50% dosis telur-terinfeksi (*egg-infected dose*, EID<sub>50</sub>) per gram tinja (Webster 1978). Titer rata-rata biasanya jauh lebih rendah dari itu. Virus influenza unggas menunjukkan kemampuan yang mengagumkan dalam mempertahankan daya penularannya di lingkungan alam, terutama di permukaan air, meskipun dalam morfologi nampak rapuh (Stallknecht 1990a+b, Lu 2003). Telah dibuktikan bahwa suspensi virus dalam air mampu mempertahankan daya penularannya selama lebih dari 100 hari pada suhu 17° C. Di bawah - 50° C virus dapat bertahan praktis untuk waktu yang tidak terbatas. Data dari Ito *et al* (1995) dan Okazaki *et al* (2000) membuktikan bahwa di daerah

palearktik, virus influenza unggas terawetkan di dalam air danau yang beku selama musim dingin ketika penjamu alaminya sedang bermigrasi ke tempat yang lebih panas. Ketika mereka kembali pada musim panas berikutnya, unggas-unggas tersebut beserta anak-anaknya yang masih rentan akan terinfeksi oleh virus-virus yang terlepas sewaktu es mencair. Sejalan dengan temuan ini, diperkirakan bahwa virus-virus influenza tersimpan awet dalam lingkungan es untuk waktu yang sangat lama (Smith 2004), dan bahwa virus-virus kuno serta genotipnya dapat aktif kembali dari tempat-tempat penampungan semacam itu (Rogers 2004).

Masuknya virus LPAI subtype H5 atau H7 ke tubuh kawanan unggas yang rentan merupakan dasar dari rantai infeksi yang dapat diikuti dengan perkembangan *de novo* biotipe yang sangat patogenik. Risiko penularan dari burung liar ke unggas peliharaan terutama terjadi kalau unggas peliharaan tersebut dibiarkan bebas berkeliaran, menggunakan air yang juga digunakan oleh burung liar, atau makan dan minum dari sumber yang tercemar kotoran burung liar pembawa virus (Capua 2003, Henzler 2003). Unggas juga dapat terinfeksi jika bersentuhan langsung dengan hewan pembawa virus, atau kotoran hewan lain yang membawa virus, atau bersentuhan dengan benda-benda yang tercemar bahan mengandung virus. Sekali virus menginfeksi kawanan unggas, LPAIV tidak harus mengalami suatu fase adaptasi pada spesies unggas tersebut sebelum dikeluarkan lagi dalam jumlah yang cukup besar untuk dapat menular secara horisontal ke unggas lain, baik dalam kawanan sendiri ataupun ke kawanan yang lain. Demikian pula sekali HPAIV berkembang dari kawanan unggas yang terinfeksi LPAIV, ia juga dapat menular dengan cara yang sama. Pasar unggas yang menjual unggas dalam jumlah besar dan unggas ditempatkan secara saling berdesakan, merupakan multiplikator penyebaran penularan (Shortage 1998, Bulaga 2003).

Tindakan pengamanan (*biosecurity*) yang baik, yang ditujukan untuk mengisolasi perusahaan peternakan unggas yang besar, dapat secara efektif mencegah penularan dari satu peternakan ke peternakan yang lain secara mekanik (misalnya melalui alat-alat, kendaraan, makanan, pakaian -- terutama sepatu, dan kandang atau kurungan yang tercemar)..Sebuah analisis yang dilakukan terhadap kasus wabah HPAI di Italia selama tahun 1999/2000 menunjukkan cara penulatan sebagai berikut: pemindahan atau perpindahan kawanan unggas (1,0%), kontak yang terjadi selama dalam pengangkutan unggas ke tempat pemotongan (8,5%), lingkungan dalam radius satu kilometer seputar peternakan yang terserang (26,2%), truk-truk yang digunakan mengangkut pakan, kandang atau bangkai unggas (21,3%), penularan secara tidak langsung karena pertukaran karyawan, alat-alat, dsb (9,4%) (Marangon and Capua 2005). Tidak ada petunjuk bahwa wabah yang terjadi di Italia itu juga menyebar melalui udara. Tetapi pada wabah yang terjadi di Belanda (2003) dan Kanada (2004), diperkirakan juga terjadi penyebaran melalui udara (Landman and Schrier 2004, Lees 2004). Peranan vektor hidup seperti binatang pengerat atau lalat, yang dapat bertindak sebagai “vektor mekanik” tetapi dia sendiri tidak terinfeksi, belum dapat ditentukan tetapi yang pasti peranan mereka tidak dianggap besar.

Hingga munculnya HPAIV H5N1 garis Asia, adanya infeksi balik HPAIV dari unggas ternak ke burung liar belum memegang peranan yang berarti. Tetapi dalam bulan April 2005, penyakit yang diakibatkan oleh H5N1 garis Asia muncul di danau Qinghai di Barat Laut China yang memakan korban ribuan angsa berkepala bergaris dan bebek spesies lain yang berpindah serta juga burung camar (Chen 2005, Lu 2005). Oleh karena itu kemungkinan terjadinya penularan virus

H5N1 garis Asia oleh burung-burung liar perlu diperhitungkan dalam konsep pencegahan di masa datang (dibahas di bawah).

Sejak akhir 2003, di Asia telah dijumpai beberapa virus H5N1 yang sangat patogen pada ayam tetapi tidak pada bebek (Sturm-Ramirez 2005). Uji coba infeksi dengan menggunakan isolat virus-virus ini menunjukkan campuran yang heterogen dalam analisis genetik dan kemampuan membentuk lempeng dalam biakan sel (Hulse Post 2005). Bebek-bebek yang selamat dalam percobaan dengan isolat ini mengeluarkan virus pada hari ke 17 yang telah kehilangan potensi patogenitasnya terhadap bebek. Jika gejala-gejala klinis digunakan untuk melakukan skrining adanya HPAIV H5N1 di lapangan, bebek-bebek ini nampaknya telah menjadi “Kuda Troya” bagi virus-virus ini (Webster 2006).

## Penularan ke manusia

Penularan virus influenza unggas ke manusia yang menimbulkan gejala-gejala klinis yang nyata masih dianggap peristiwa yang jarang (lihat Tabel 3). Mengingat besarnya potensi terpapar HPAIV H5N1 pada jutaan manusia di Asia Tenggara, jumlah kasus influenza unggas pada manusia yang terdokumentasikan, meskipun menunjukkan peningkatan selama beberapa tahun terakhir ini, secara komparatif masih dapat dianggap rendah ([http://www.who.int/diseases/avian\\_influenza/country/en](http://www.who.int/diseases/avian_influenza/country/en)).

Pertama kali ditemukan adanya hubungan antara HPAIV H5N1 garis Asia dengan penyakit pernafasan pada manusia adalah di Hong Kong pada tahun 1997, ketika enam dari 18 orang yang terinfeksi H5N1 meninggal dunia. Kasus-kasus ini secara epidemiologik berhubungan dengan kejadian wabah H5N1 yang sangat patogen di pasar unggas hidup (Yuen 1998, Claas 1998, Katz 1999). Risiko penularan langsung dari unggas ke manusia terutama terjadi pada mereka yang telah bersentuhan dengan unggas ternak yang sudah terinfeksi, atau dengan permukaan benda-benda yang banyak tercemari kotoran unggas. Risiko terpapar diperkirakan cukup substantif sewaktu penyembelihan, pencabutan bulu, pematangan dan persiapan unggas untuk dimasak ([http://www.who.int/csr/don/2005\\_08\\_18/en/](http://www.who.int/csr/don/2005_08_18/en/)). Virus HPAI H5N1 garis asia dapat ditemukan di semua jaringan – termasuk daging – di tubuh bangkai. Dalam beberapa kejadian serupa, dilaporkan bahwa orang yang menyembelih atau mempersiapkan unggas yang sakit untuk dimakan telah mengalami penyakit yang fatal, sementara anggota keluarganya yang juga ikut makan daging unggas tersebut tidak mengalami hal serupa ([http://www.who.int/csr/don/2005\\_10\\_13/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2005_10_13/en/index.html)).

Suatu *strain* H9N2 telah menyebabkan gejala mirip influenza ringan pada dua orang anak dalam kejadian SAR di Hong Kong di tahun 1999, dan seorang anak lagi di pertengahan bulan Desember 2003 (Saito 2001, Butt 2005). *Strain* H9N2 yang beredar dalam unggas ternak pada saat ini telah menimbulkan gejala-gejala dan angka kematian yang bermakna pada spesies yang rentan semisal kalkun dan ayam.

Sampai hari ini, tidak ada bukti bahwa daging unggas yang dimasak secara baik dapat menjadi sumber penularan H5N1 garis Asia pada manusia. Sebagai pedoman umum, WHO menganjurkan agar daging dimasak sampai matang benar, sehingga seluruh bagian daging mencapai suhu internal 70° C. Pada suhu ini

## 20 FLU BURUNG

virus influenza dapat dimatikan sehingga membuat aman untuk dimakan meskipun daging mentahnya telah tercemari virus H5N1 (WHO 2005).

Tabel 3 Infeksi influenza unggas pada manusia yang terdokumentasikan\*

Tahun	Negara/Wilayah	Strain	Kasus (Mati)	Gejala-gejala	Sumber penularan
1959	Amerika Serikat	H7N7**	1	pernafasan	bepergian ke luar negeri
1995	Inggeris	H7N7	1	konjunktivitis	bebek peliharaan yang berenang di danau yang sama dengan yang digunakan oleh burung berpindah
1997	Hong Kong	H5N1**	18 (6)	pernafasan/ pneumonia	unggas ternak
1998	China (Guangdong)	H9N2	5	tidak diketahui	tidak diketahui
1999	Hong Kong	H9N2	2	pernafasan	tidak diketahui
2003 (Feb)	Hong Kong	H5N1**	2 (1)	pernafasan	tidak diketahui
2003 (Maret)	Belanda	H7N7**	89 (1)	konjunktivitis (pneumonia, pada kasus yang meninggal juga terjadi insufisiensi pernafasan)	unggas ternak
2003 (Des)	Hong Kong	H9N2	1	pernafasan	tidak diketahui
2003	New York	H7N2	1	pernafasan	tidak diketahui
2003	Vietnam	H5N1**	3 (3)	pernafasan	unggas ternak
2004	Vietnam	H5N1**	29 (20)	pernafasan	unggas ternak
2004	Thailand	H5N1**	17 (12)	pernafasan	unggas ternak
2004	Kanada	H7N3**	2	konjunktivitis	unggas ternak
2005	Vietnam	H5N1**	61 (19)	pernafasan	unggas ternak
2005	Thailand	H5N1**	5 (2)	pernafasan	unggas ternak
2005	China	H7N3**	7 (3)	pernafasan	unggas ternak
2005	Kamboja	H5N1**	4 (4)	pernafasan	unggas ternak
2005	Indonesia	H5N1**	16 (11)	pernafasan	unggas ternak
2006	Turki	H5N1**	3 (3)	pernafasan	unggas ternak

\*Sumber: Avian influenza – assessing the pandemic threat. WHO.

[http://www.who.int/csr/disease/influenza/WHO\\_CDS\\_2005\\_29/en/](http://www.who.int/csr/disease/influenza/WHO_CDS_2005_29/en/), diakses 06 Januari 2006.

\*\* Sangat patogen bagi unggas

## Penularan ke mamalia lain

Dalam beberapa kejadian, virus influenza unggas sudah menular ke berbagai spesies mamalia. Di sini, mengikuti siklus replikasi dan adaptasi, garis epidemi baru dapat diketahui. Terutama babi telah sering terlibat dalam “pelintasan antar kelas” semacam itu. Di populasi babi di Eropa, virus H1N1 yang serupa virus unggas sangat banyak dijumpai (Heinen 2002) dan sebuah virus H1N2, yang merupakan virus re-assortant unggas-manusia, pertama kali berhasil diisolasi di Inggris tahun 1992, kini makin mantap pertumbuhannya (Brown 1998). Di Amerika Serikat, sebuah virus (H3N2) yang merupakan *triple reassortant* antara H1N1 yang klasik, virus H3N2 manusia dan subtipe virus unggas kini mulai beredar (Olsen 2002). Subtipe lain yang barangkali berasal dari unggas (mis. H1N7, H4N6) beberapa kali dijumpai pada babi (Brown 1997, Karasin 2000). Sebuah virus H9N2 yang berasal dari unggas dalam prevalensi yang moderat dijumpai pada babi di China bagian timur (Xu 2004). Selain babi, mamalia laut dan kuda juga sudah menunjukkan tertulari virus influenza A yang berasal dari unggas (Guo 1992, Ito 1999).

Infeksi H5N1 secara alami juga pernah dijumpai pada harimau dan kucing besar lainnya di sebuah kebun binatang di Thailand setelah hewan-hewan itu diberi makan bangkai ayam yang membawa virus (Keawcharun 2004, Quirk 2004, Amosin 2005). Hewan-hewan tersebut kemudian menderita sakit berat dengan angka kematian yang tinggi. Nampaknya terjadi juga penularan dari kucing ke kucing di kebun binatang tersebut (Thanawongnuwech 2005). Kasus-kasus ini merupakan laporan pertama tentang terjadinya infeksi virus influenza pada golongan *Felidae*. Dalam suatu eksperimen, kucing rumah Eropa berbulu pendek juga dapat ditulari virus H5N1 (Kuiken 2004).

Pada tahun 2004, sebanyak 3.000 sampel serum yang diambil dari babi yang bebas berkeliaran di Vietnam telah diuji secara serologik untuk mengetahui seberapa jauh mereka telah terpapar oleh virus influenza H5N1 (Choi 2005). Melalui uji netralisasi virus dan analisis *Western blot* terbukti bahwa 0,25% sampel menunjukkan hasil seropositif. Dalam suatu eksperimen infeksi, nampak bahwa babi dapat terinfeksi virus H5N1 yang diisolasi di Asia di tahun 2004 dari manusia dan unggas. Gejala yang muncul setelah diobservasi selama empat hari pasca infeksi hanyalah batuk ringan dan suhu badan yang sedikit meningkat. Selanjutnya virus dapat diisolasi dari jaringan saluran pernafasan selama oaling sedikit enam hari. Titer virus tertinggi dari usap jaringan hidung dijumpai pada hari kedua pasca infeksi, tetapi tidak satupun dari hewan yang diinfeksi melalui percobaan ini yang menularkannya ke babi lain yang bersentuhan dengan mereka. Nampaknya virus H5N1 ganas yang beredar di Asia dapat secara alami menginfeksi babi tetapi insidensi penularan seperti itu agaknya masih rendah. Tidak satupun virus H5N1 dari unggas dan manusia dalam uji coba tersebut sanggup menular di antara babi-babi dalam kondisi eksperimental ini (Choi 2005). Berdasarkan pada pengamatan ini, saat ini agaknya babi tidak memainkan peranan penting terhadap terjadinya wabah virus H5N1 garis Asia.

Wabah influenza unggas H7N7 yang sangat patogen pada unggas ternak di Belanda, Belgia dan Jerman dalam musim semi tahun 2003 telah menyebabkan penyakit yang ringan, terutama konjungtivitis, pada 89 pekerja peternakan unggas yang terpapar oleh unggas hidup dan bangkai unggas yang terinfeksi (Koopmans 2004). Tetapi seorang dokter hewan yang terkena infeksi

mengalami sesak nafas akut yang membawa kematian (Foucher 2004). Selain itu, selama terjadi wabah di Belanda, infeksi H7N7 telah secara virologi dan serologi terpastikan pada beberapa keluarga yang mengalami kontak dengan sumber infeksi, empat di antaranya mengalami konjunktivitis (Du Ry van Beest Holle 2005). Bukti adanya infeksi alami (asintomatik) oleh *strain* LPAIV subtipe H9, H7 dan H5 pada manusia juga telah dilaporkan pada kejadian lain di Italia dan Jepang (Zhou 1999, Puzell 2005, Promed 20060110.0090).

Dalam sebuah laporan singkat (Promed Mail 20050826), disampaikan sebuah kejadian infeksi mematikan oleh influenza H5N1 pada tiga ekor musang pemakan ikan yang lahir di tempat pemeliharaan di sebuah taman nasional Vietnam. Sumber penularan sampai saat ini belum diketahui dengan jelas. Sementara 20 ekor hewan sejenis yang tinggal di kandang sebelahnya tidak ada satupun yang sakit.

Virus influenza unggas tidak ditemukan pada tikus, kelinci dan beberapa jenis hewan lain yang ada di pasar unggas hidup di Hong Kong, ketika sebanyak 20% ayam yang dijual di sana ditemukan positif terinfeksi H5N1 garis asia (Shortridge 1998).

## EPIDEMIOLOGI

### Unggas ternak

Sampai akhir tahun 2003, HPAI dianggap sebagai penyakit yang jarang terjadi pada unggas ternak. Sejak 1959, hanya ada 24 wabah primer di seluruh dunia yang pernah dilaporkan (lihat Tabel 1). Sebagian besar terjadi di Eropa dan benua Amerika. Kebanyakan wabah tersebut terbatas secara geografis pada daerah tertentu, dengan hanya lima kejadian yang menyebar ke sejumlah peternakan, dan hanya satu yang dikpaorkan menyebar secara internasional. Tidak satupun dari wabah-wabah tersebut yang mendekati ukuran wabah H5N1 di asia yang terjadi di tahun 2004 (WHO 2004/03/02). Sampai hari ini semua wabah dalam bentuk yang sangat patogen disebabkan oleh virus influenza A dari subtipe H5 dan H7.

Di masa lalu, perdagangan ilegal atau perpindahan unggas hidup yang terinfeksi atau produk-produk darinya yang belum diolah, serta penyebaran virus secara mekanikal melalui mobiltas manusia (pelancong, pengungsi, dsb) telah menjadi faktor utama dalam penyebaran HPAIV.

Dimensi baru wabah HPAI mencuat di akhir tahun 2003. Dari pertengahan desember 2003 sampai ke awal Februari 2004, wabah yang disebabkan oleh H5N1 HPAI garis Asia dilaporkan telah menyerang unggas di Korea Selatan, Vietnam, Jepang, Thailandf, Kamboja, Republik Demokratik Rakyat Lao, Indonesia dan China. Kejadian wabah yang serentak di banyak negara oleh virus influenza H5N1 yang sangat patogen pada unggas ini belum pernah terjkadai sebelumnya. Segala upaya yang dilakukan untuk membendung wabah ini sebegitu jauh telah gagal. Meskipun pemisahan dan pemusnahan secara *pre-emptive* sudah dilakukan terhadap sekitar 150 juta unggas, H5N1 sekarang dianggap menjadi endemik di beberapa bagian dari Indonesia (sampai akhir Maret 2006 sudah menjangkau 26 dari 31 provinsi) dan Vietnam, sebagian kamboja, China, Thailand dan mungkin juga di Republik Demokratik Rakyat Lao.

Virus awal, dijumpai untuk pertama kalinya di tahun 1997, adalah hasil proses *re-assortant* termasuk paling tidak sebuah virus H5N1 yang berasal dari angsa domestik (A/goose/Guangdong/1/96, yang menumbangkan unsur HA) dan virus H6N1 yang diduga berasal dari bebek (A/teal/Hong Kong/W312/97) yang menumbangkan NA dan segmen-segmen untuk protein internal), yang kemudian mengalami banyak siklus re-asortasi dengan virus influenza unggas lain yang tidak dikenal (Xu 1999, Hoffmann 2000, Guan 2002b). Beberapa genotip garis H5N1 yang berbeda juga pernah dilaporkan (Cauthen 2000, Guan 2002a+2003). Apa yang disebut sebagai genotip “Z” telah mendominasi wabah yang terjadi sejak desember 2003 (Li 2004).

Dalam bulan April 2005, tingkat epidemi baru terjadi ketika untuk pertama kalinya *strain* H5N1 dapat menulari populasi unggas-unggas liar dalam skala besar (Chen 2005, Liu 2005). Di danau Qinghai di Barat Laut China beberapa ribu angsa berkepala bergaris, sebuah spesies unggas berpindah, sakit dan mati terkena infeksi virus tersebut. Beberapa spesies burung camar dan juga burung laut lain (*cormorants*) juga terserang di tempat ini. Ketika di musim panas dan awal musim gugur tahun 2005, wabah H5N1 dilaporkan untuk pertama kalinya di wilayah yang secara geografis berdekatan dengan Mongolia, Kazakhstan dan Siberia Selatan, timbul dugaan bahwa virus tersebut telah disebarkan oleh kawanan unggas berpindah. Penyebaran wabah ini kemudian meluas di sepanjang jalur perpindahan unggas dari Asia Dalam ke Timur Tengah dan Afrika, mengenai Turki, Romania, Kroasia, dan semenanjung Krimea di akhir tahun 2005. Dalam semua kejadian (kecuali di Mongolia dan Kroasia) wabah ini mengenai baik unggas ternak maupun unggas liar. Banyak kasus yang dilaporkan yang mengenai unggas ternak terjadi di daerah yang berdekatan dengan danau dan rawa-rawa yang menjadi tempat singgah unggas air liar. Meskipun hal ini memperkuat dugaan bahwa unggas berpindah menjadi penyebar virus, patut dicatat bahwa sejauh ini virus HPAI H5N1 garis Asia hanya ditemukan di unggas air liar yang sakit berat atau mati. Status H5N1 yang sebenarnya dalam populasi unggas air liar dan peranannya dalam menyebarkan infeksi masih menjadi tanda tanya besar. Pada saat ini yang dapat diperkirakan hanyalah bahwa unggas air liar tersebut dapat membawa virus sampai jauh selama dalam masa inkubasi (masa tunas), atau agaknya beberapa spesies masih dapat mempertahankan mobilitasnya meskipun sudah terinfeksi H5N1.

Tetapi sementara itu, berbagai penelitian di China telah mengungkapkan lebih banyak lagi genotip baru dari virus H5N1 garis Asia pada burung gereja (Kou 2005). Tidak satupun burung gereja tempat virus tersebut diambil untuk diisolasi, ataupun bebek-bebek yang dicoba diinfeksi dengan virus-virus tersebut yang menunjukkan gejala-gejala sakit. Tetapi ketika dilakukan percobaan penularan ke ayam, gejala infeksi H5N1 muncul sepenuhnya. Karena beberapa burung gereja dari kawanan yang sama membawa beberapa genotipe yang berbeda, yang mungkin tumbuh dari proses re-asortasi dengan virus influenza unggas lain yang tidak diketahui asalnya, maka diperkirakan bahwa virus serupa H5N1 telah menular ke burung-burung tersebut sejak beberapa waktu (bulan?) yang lalu. Data ini menandai adanya langkah penyebaran baru: burung gereja, karena cara hidupnya, telah menjadi mediator ideal antara unggas liar dengan unggas ternak dan mungkin juga secara dua arah membawa virus ke populasi unggas-unggas tersebut. Infeksi H5N1 ganas yang terjadi pada burung gereja secara individual (sakit atau mati) di lokasi yang terbatas pernah dilaporkan dari Thailand dan Hong Kong. Endemisitas HPAIV pada burung-burung seperti burung gereja,



walet dan murai yang hidup dekat dengan hunian manusia bukan saja dapat mendekatkan bahaya pada industri ternak unggas tetapi juga meningkatkan risiko penularan kepada manusia (Nestorowicz 1987).

## Manusia

Sampai tanggal 30 Desember 2005, sebanyak 142 kasus infeksi influenza unggas pada manusia telah dilaporkan dari berbagai wilayah. Pada saat itu penularan pada manusia masih terbatas di Kamboja, Indonesia, Thailand, dengan episenter di Vietnam (65,5% dari seluruh kasus), Sebanyak 72 orang (50,7%) telah meninggal. Jumlah tersebut kini sudah bertambah lagi terutama dengan meluasnya penyebaran dan bertambahnya kematian di Indonesia. Juga dari beberapa negara lain (Turki, Irak) sudah ada laporan tentang kasus influenza unggas ini pada manusia.

Di bawah ini disajikan tabel (Tabel 4) jumlah kasus dan kematian manusia akibat influenza unggas A (H5N1) yang dilaporkan ke WHO sampai tanggal 24 Maret 2006. Hanya kasus yang secara laboratorik sudah dikonfirmasi yang dimuat dalam tabel ini.

Tabel 4 Jumlah kumulatif kasus influenza unggas A (H5N1) pada manusia yang dilaporkan dan dikonfirmasi ke WHO

Negara	2003		2004		2005		2006		Total	
	Kasus	Mati	Kasus	Mati	Kasus	Mati	Kasus	Mati	Kasus	Mati
Azerbaijan	0	0	0	0	0	0	7	5	7	5
Cambodia	0	0	0	0	4	4	1	1	5	5
China	0	0	0	0	8	5	8	6	16	11
Indonesia	0	0	0	0	17	11	12	11	29	22
Irak	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
Thailand	0	0	17	12	5	2	0	0	22	14
Turki	0	0	0	0	0	0	12	4	12	4
Viet Nam	3	3	29	20	61	19	0	0	93	42
Total	3	3	46	32	95	41	42	29	186	105

Sumber: WHO ([http://who.int/csr/disease/avian\\_influenza/en](http://who.int/csr/disease/avian_influenza/en))

Diakses tanggal 02 April 2006, pukul 2:42

Untuk informasi lebih rinci, lihat Bab tentang Epidemiologi.

## DAMPAK EKONOMI

Wabah influenza unggas yang sangat patogen secara keseluruhan dapat mengakibatkan kehancuran bagi industri ternak unggas, apalagi bagi peternak individual, di wilayah yang terserang (lihat Tabel 1). Kerugian ekonomis biasanya hanya sebagian yang secara langsung diakibatkan oleh kematian unggas yang terinfeksi H5N1. Berbagai upaya yang dilakukan untuk mencegah penyebaran lebih lanjut juga memerlukan biaya yang besar. Bagi negara berkembang yang memerlukan unggas dan telur sebagai sumber utama protein, dampak wabah ini terhadap keadaan gizi rakyatnya juga sangat besar. Sekali wabah sudah meluas, pengendaliannya semakin sulit dilakukan dan mungkin memerlukan waktu sampai bertahun-tahun (WHO 2004/01/22).

## Upaya pengendalian wabah HPAI

Mengingat potensi dampak ekonomi yang sangat merugikan, HPAI menjadi sasaran kewaspadaan di semua negara serta pengaturan yang ketat (Pearson 2003, OIE Terrestrial Animal Health Code 2005). Tindakan yang harus diambil dalam menghadapi wabah HPAI tergantung kepada keadaan epidemiologis di tiap negara/wilayah yang terkena. Di wilayah Uni Eropa yang HPAI-nya tidak endemik, pencegahan influenza unggas melalui vaksinasi biasanya dilarang. Dengan demikian jika ada wabah HPAI di antara unggas ternak dapat diperkirakan akan terjadi secara mencolok karena sifat klinis penyakit ini yang dapat menghancurkan industri ternak unggas. Akibatnya, jika hal itu terjadi, akan diambil tindakan yang lebih agresif, misalnya memusnahkan segala sesuatu yang tercemar virus, dengan tujuan segera membasmi virus HPAI dan melokalisasi wabah pada daerah atau perusahaan yang terkena saja.

Untuk tujuan ini, zona pengawasan dan pengendalian didirikan di sekitar kejadian dengan radius yang berbeda-beda pada tiap negara (antara 3 dan 10 kilometer di wilayah Uni Eropa). Pengkarantinaan peternakan yang terserang dan yang berhubungan dengannya, pemusnahan semua unggas yang terinfeksi atau terpapar virus, dan pembuangan bangkai unggas secara baik, merupakan cara yang baku untuk mencegah penyebaran secara lateral ke peternakan yang lain (OIE - Terrestrial Animal Health Code). Adalah sangat penting bahwa perpindahan unggas hidup dan, barangkali, juga produk ternak unggas, baik di dalam negeri maupun lintas negara, harus dibatasi selama ada wabah.

Selain itu, pengendalian LPAI subtype H5 dan H7 pada unggas, melalui penutupan dan pembersihan atau bahkan pemusnahan peternakan yang terinfeksi, perlu dianjurkan untuk memperkecil risiko perkembangan HPAIV secara *de novo* di daerah itu. Masalah khusus dari konsep pemberantasan wabah seperti ini dapat muncul di daerah (i) dengan populasi unggas ternak yang sangat tinggi (Marangon 2004, Stagemann 2004, Manelli 2005) dan (ii) usaha ternak kecil di sekitarnya dengan unggas yang dibiarkan lepas berkeliaran (Witt and malone 2005). Akibat kedekatan lokasi industri peternakan unggas dengan industri yang terkait, persebaran penyakit dapat lebih cepat dibanding upaya pemberantasannya. Oleh karena itu sewaktu terjadi wabah di Italia tahun 1999/2000, bukan hanya perusahaan yang terinfeksi atau yang bersentuhan yang dihancurkan, tetapi juga kelompok unggas yang berisiko terinfeksi dalam radius satu kilometer dari peternakan yang terserang infeksi ikut dimusnahkan sebagai tindakan *pre-emptive*. Tindakan pembasmian tersebut memakan waktu empat bulan dan memusnahkan sebanyak 13 juta unggas (Capua 2003). Pembentukan zona penyangga yang berupa daerah bebas unggas dengan radius satu sampai beberapa kilometer dari peternakan yang terserang juga merupakan kunci keberhasilan pemberantasan wabah virus HPAI di Belanda di tahun 2003 dan Kanada di tahun 2004. Akibatnya musnahnya 30 juta unggas di Belanda dan 19 juta di Kanada bukan hanya disebabkan oleh wabah penyakit itu sendiri tetapi juga karena pemusnahan *pre-emptive* yang dilakukan. Di tahun 1977, penguasa Hong Kong memusnahkan seluruh populasi unggas dalam waktu tiga hari (pada tanggal 29, 30 dan 31 Desember; 1,5 juta unggas). Penerapan tindakan seperti itu yang ditujukan untuk segera membasmi HPAIV dengan juga mengorbankan hewan yang tidak terinfeksi, mungkin hanya dapat dilakukan di daerah perkotaan dan daerah peternakan unggas komersial. Tetapi tindakan ini juga akan memukul industri secara bermakna dan menimbulkan

pertanyaan publik tentang aspek etika jika pemusnahan juga dilakukan terhadap jutaan hewan yang sehat dan tidak terinfeksi di wilayah penyangga.

Tindakan seperti itu sangat sulit dilakukan di daerah pedesaan yang mengusahakan peternakan unggas secara tradisional dan unggas, ayam dan bebek, dibiarkan berkeliaran secara bebas bergaul dengan burung-burung liar atau berbagi air dengan mereka. Terlebih lagi bebek ternak dapat menarik kedatangan bebek liar dan dengan demikian dapat menjadi rantai penularan yang berarti (WHO 2005). Keadaan ini dapat pijakan bagi virus HPAI untuk menjadi endemik.

Sifat endemik HPAI di daerah tertentu akan terus menekan industri peternakan. Karena tindakan-tindakan tersebut tidak dapat dipertahankan untuk jangka waktu lama tanpa menghancurkan industri ternak unggas, atau kalau dilakukan di negara berkembang, mengakibatkan kehilangan sumber protein bagi penduduknya, maka harus dicari cara lain.

Vaksinasi sudah secara luas dilakukan dalam keadaan tersebut dan mungkin dapat dijadikan sebagai upaya pendukung untuk memberantas wabah di daerah non-endemik.

## VAKSINASI

Dalam dunia kedokteran hewan, vaksinasi ditujukan untuk mencapai empat sasaran: (i) perlindungan terhadap timbulnya penyakit secara klinis, (ii) perlindungan terhadap serangan virus yang virulen, (iii) perlindungan terhadap ekskresi virus, (iv) perbedaan secara serologik antara hewan yang terinfeksi dari hewan yang divaksinasi (dikenal sebagai *differentiation of infected from vaccinated animals*, atau prinsip DIVA).

Di bidang vaksinasi influenza, sampai saat ini belum ada vaksin, baik secara eksperimental maupun yang beredar secara komersial, yang dapat memenuhi semua persyaratan di atas (Lee and Suarez 2005). Tujuan pertama, yaitu perlindungan terhadap munculnya penyakit secara klinis dapat dipenuhi oleh semua vaksin. Risiko hewan yang divaksinasi untuk terkena infeksi virus virulen, dan mengeksresinya, biasanya juga dapat diturunkan tetapi tidak sepenuhnya tercegah. Hal ini dapat menimbulkan masalah epidemiologik yang signifikan di daerah endemik yang sudah mendapat vaksinasi secara luas: unggas yang sudah divaksinasi yang nampak sehat dapat juga terkena infeksi dan mengeluarkan virus liar di balik perlindungan vaksin. Efektivitas pengurangan ekskresi virus merupakan hal yang penting bagi mencapai tujuan utama pengendalian wabah, yaitu, terbasminya virus virulen di lapangan. Efektivitas tersebut dapat dikuantifikasikan dengan menggunakan faktor replikasi  $r_0$ . Jika sekawanan unggas yang sudah divaksinasi terkena infeksi dan menularkan infeksi ke rata-rata kurang dari satu kawanan lainnya, ( $r_0 < 1$ ), maka secara matematik virus virulen tersebut cenderung dapat dibasmi (van der Goot 2005). Dalam hal vaksinasi terhadap virus H5N1 zoonotik, penurunan jumlah virus yang diekskresi berarti juga menurunkan risiko penularan ke manusia karena untuk dapat menembus batas penghalang (*barrier*) antara unggas dan manusia diperlukan jumlah virus yang signifikan. Dan akhirnya, tehnik DIVA juga memungkinkan pendeteksian infeksi oleh virus liar melalui pemeriksaan serologik terhadap unggas yang sudah divaksinasi.

Untuk kepentingan praktikal beberapa persyaratan harus dipenuhi (Lee and Suarez 2005):

- Karena adanya potensi reasortasi genetik, dan juga, dalam hal subtype 5 dan H7, risiko terjadinya mutasi spontan yang mengarah ke peningkatan patogenisitas, vaksin sebaiknya tidak berisi virus influenza yang berpotensi mengalami replikasi. Oleh karena itu penggunaan vaksin dengan virus hidup yang dilemahkan sudah ketinggalan jaman.
- Perlindungan terhadap HPAI pada unggas terutama tergantung kepada antibodi yang spesifik untuk HA tertentu. Oleh karena itu virus untuk vaksin harus berasal dari subtype H yang sama dengan virus liar yang ada di sana. Kecocokan ideal antara vaksin dengan virus liar, yang disyaratkan bagi vaksin untuk manusia, tidak menjadi keharusan bagi vaksin unggas. Pembangkitan imunitas reaktif-silang homosubtipik pada unggas mungkin sudah menjadi perlindungan yang memadai karena pada saat ini jarang dijumpai adanya pembentukan antigen yang dipicu vaksin pada virus influenza unggas, akibat tidak adanya upaya vaksinasi yang meluas.
- Strategi penandaan (DIVA) harus digunakan (Suarez 2005). Atau sebagai gantinya, digunakan unggas yang tidak divaksinasi sebagai penanda untuk monitoring.

Ada sejumlah vaksin yang dikembangkan. Sebagian besar masih didasarkan pada penggunaan virus utuh yang dibuat tidak aktif yang pemberiannya dilakukan dengan menyuntikkan pada unggas satu persatu.

Vaksin homolog yang sudah dilemahkan, menggunakan *strain* HPAI yang sesungguhnya, memicu perlindungan secara baik tetapi tidak memungkinkan pembedaan serologik baik pada vaksinnnya maupun unggas yang terinfeksi.

Sebaliknya vaksin heterolog yang dilemahkan dapat digunakan sebagai vaksin penanda ketika virus vaksin mengekspresikan subtype HA yang sama tetapi subtype NA yang berbeda dibandingkan dengan virus liar (mis. vaksin H5N9 vs. HPAI H5N2). Dengan mendeteksi antibodi yang spesifik terhadap subtype NA, ciri serologik vaksin dan unggas yang terinfeksi dapat dibedakan (Cattoli 2003). Tetapi metoda ini dapat sangat rumit dan vaksin ini pun kurang sensitif. Meskipun demikian vaksin seperti itu dapat disimpan di bank vaksin yang mempunyai beberapa subtype H5 dan H7 dengan subtype NA yang tidak bersesuaian. Proses genetik berbalik (*reverse genetics*) akan sangat membantu pembuatan vaksin baik untuk kedokteran hewan maupun keperluan kedokteran manusia dengan kombinasi HxNy yang diinginkan dalam lingkungan genetik yang mendukung (Liu 2003, Neumann 2003, Subbarao 2003, Lee 2004, Chen 2005, Stech 2005). Pada saat ini vaksin heterolog yang dilemahkan digunakan di lapangan di daerah wabah H5N1 di Asia Tenggara dan juga Meksiko, Pakistan dan Italia Utara (mis. Garcia 1998, Swayne 2001). Sebagai pengganti dari penggunaan sistem DIVA untuk vaksin dari virus yang dilemahkan, diusulkan untuk menggunakan pendeteksian adanya antibodi yang spesifik NS-1 (Tumpey 2005). Antibodi-antibodi ini terbentuk dengan titer yang tinggi pada unggas yang terinfeksi, tetapi rendah pada yang sudah divaksinasi dengan vaksin yang dilemahkan.

Vaksin yang terbentuk melalui rekombinan dalam vektor hidup menampilkan gen HA jenis H5 atau H7 yang terdapat dalam kerangka virus atau bakteri yang dapat menginfeksi spesies unggas (mis. antara lain virus cacar burung [Beard 1991, Swayne 1997 + 2000c], virus laringotrakheitis ([Lueschow 2001, Veits 2003] atau virus penyakit New Castle [Swayne 2003]). Karena digunakan

vaksin hidup, penggunaan massal melalui penyemprotan atau air dimungkinkan. Di satu sisi vaksin ini memungkinkan pembedaan cara DIVA secara jelas, di sisi lain imunitas terhadap virus vektor akan yang sudah ada sebelumnya akan mempengaruhi keberhasilan vaksinasi. Suatu pengujian dengan menggunakan vaksin rekombinan cacar unggas di lapangan sedang dilakukan di Meksiko dan AS.

Pada akhirnya, keberhasilan vaksinasi dengan protein rekombinan HA dan DNA menggunakan plasmid penampil HA telah dibuktikan dalam suatu percobaan (Crawford 1999, Kodihall 1997).

Kini sedang direncanakan vaksinasi yang dilakukan secara luas di negara-negara Asia Tenggara (Notmille 2005).

## BAHAYA PANDEMI

Ada tiga syarat yang harus dipenuhi untuk menandai awal terjadinya pandemi:

- Sebuah virus subtype HA, yang tidak pernah menyerang manusia minimal satu generasi, kini muncul (atau muncul kembali) *dan*
- Menginfeksi serta mengalami replikasi secara efisien dalam tubuh manusia *dan*
- Secara mudah menyebar dan bertahan dalam populasi manusia.

Ini menunjukkan bahwa ancaman terjadinya pandemi influenza baru pada manusia bukanlah secara khusus terkait dengan munculnya HPAI H5N1. Sebegitu jauh, H5N1 hanya memenuhi dua dari tiga syarat di atas: artinya, untuk sebagian besar umat manusia ada subtype baru dan sudah menular serta menimbulkan penyakit yang berat dan sangat mematikan, dengan kematian yang 140 kasus sampai sat ini. Pada sebagian besar manusia tidak ada kekebalan terhadap virus sejenis H5N1. Sebuah pandemi baru sudah di ambang pintu seandainya H5N1 garis Asia berhasil memperoleh sifat-sifat yang memungkinkan ia dapat menular secara efisien dan bertahan dari manusia ke manusia. Baik sifat-sifat itu diperoleh melalui adaptasi secara berangsur ataupun melalui reasortasi dengan virus yang sudah beradaptasi dalam tubuh manusia (Guan 2004). Secara *in vitro* sudah dibuktikan bahwa dua pertukaran asam amino yang berlangsung simultan yang terjadi pada reseptor tempat penggabungan protein HA dari virus HPAI H5N1 garis Asia (Q226L dan G228S) mengoptimalkan ikatannya kepada reseptor tipe 2-6 pada manusia seperti yang dimiliki oleh virus influenas A yang sudah beradaptasi dalam tubuh manusia (Harvey 2004). Gambaryan *et al* (2006) berhasil mengidentifikasi dua isolat virus manusia yang berasal dari ayah dan anak laki-laknya yang telah terinfeksi H5N1 di Hong Kong pada tahun 2003, yang berbeda dengan semua isoat H5N1 lainnya yang diperoleh dari manusia dan unggas, menunjukkan afinitas yang lebih tinggi terhadap reseptor 2-6 akibat telah terjadi mutasi S227N secara unik pada tempat penggabungan di reseptor HAI.

Pandemi mungkin kini sudah di ambang pintu, atau bahkan sudah terjadi ketika anda membaca naskah ini. Tidak seorang pun dapat meramalkannya. Kemungkinan hal seperti itu terjadi berkorelasi langsung dengan jumlah virus yang beredar di unggas, dan dengan demikian juga berarti dengan besarnya kemungkinan manusia terpapar. Oleh karena itu keberhasilan membasmi H5N1 pada sumbernya akan menurunkan risiko pandemi oleh virus ini. Ada perkiraan, yang dibahas di e-mail dan juga berbagai forum diskusi, bahwa cukup dengan investasi sebesar 10% dari dana yang disediakan untuk mengembangkan vaksin manusia yang spesifik-

H5, akan mempunyai efek yang lebih besar jika digunakan untuk membasmi H5N1 pada unggas dalam upaya mencegah wabah H5N1 pada manusia.

Sejak pertama kali H5N1 dapat diisolasi dari manusia di tahun 1997, virus ini belum berhasil menyelesaikan langkah terakhir (yaitu menyebar secara mudah serta mampu bertahan pada manusia) dalam memenuhi tiga syarat di atas untuk dapat menjadi pandemi di kalangan manusia. Tetapi penelitian mutakhir belum lama ini menunjukkan bahwa dari tahun ke tahun virulensi H5N1 pada mamalia makin meningkat dan jenis penjamu pun makin meluas:

- H5N1 yang diisolasi dari bebek domestik yang nampak sehat di daratan China dari tahun 1999 sampai 2002, dan juga di Vietnam sejak 2003 secara progresif makin patogenik terhadap mamalia (Chen 2004).
- H5N1 telah memperluas jenis penjamu, dan secara alami telah menulari dan membunuh beberapa spesies mamalia (kucing, harimau) yang sebelumnya dianggap resisten terhadap infeksi virus influenza unggas.

([http://www.who.int/csr/don/2004\\_02\\_20/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2004_02_20/en/index.html)).

Meskipun demikian, jangan sampai kita lengah karena sementara kita terlalu memusatkan perhatian kepada situasi H5N1 di Asia, virus influenza lain yang mungkin lebih mempunyai potensi untuk menimbulkan pandemi dapat saja muncul. Misalnya beberapa *strain* dari subtipe H9N2 yang sebelum tahun 1980-an belum ditemukan di Asia, kini bukan saja mulai meluas di antara populasi unggas di Asia tetapi juga telah melintas ke populasi babi di bagian tenggara dan timur China (Shortridge 1992, Peiris 2001, Xu 2004). Reseptor dari virus-virus ini menunjukkan kesamaan dalam ciri-ciri spesifiknya dengan virus yang telah beradaptasi dengan manusia (Li 2005b, Matrosovich 2001). Virus-virus H9 ini mempunyai penjamu yang luas, dan secara genetik beragam serta dapat secara langsung menginfeksi manusia. *Strain* H9N2 yang telah menginfeksi manusia di Hong Kong, malah menunjukkan gentipe yang dekat dengan genotipe virus H5N1 tahun 1997 (Lin 2000).

## KESIMPULAN

Makna penting peranan virus influenza unggas (AI) yang sangat patogen terhadap wabah yang menghancurkan peternakan unggas secara nyata makin mejingkat dalam sepuluh tahun terakhir ini. Bangkitnya virus-virus AI subtipe H5 dan H7 yang berpatogenisitas rendah (LP, *low pathogenicity*) dari tempat penampungannya dalam unggas liar telah menjadi dasar dari proses ini. Masih harus diteliti apakah benar, dan mengapa, prevalensi virus H5 dan H7 dalam tempat penampungannya telah berubah. Dalam hal status endemik dari H5N1 garis Asia yang berpatogenisitas tinggi (HPAI) dalam populasi unggas ternak di Asia Tenggara, yang juga sering telah menyebabkan tertularinga unggas berpindah, sudah saatnya ditinjau kembali paradigma epidemiologi dan endemisitas dalam populasi unggas berpindah. Wabah ini dapat menimbulkan kerugian besar terhadap industri ternak unggas dalam skala lintas benua. Risiko paparan pada manusia secara langsung berhubungan dengan meningkatnya kehadiran virus yang berpotensi menular dari hewan ke manusia dalam unggas ternak.

Dari sisi unggas dan kedokteran hewan, masih banyak pertanyaan yang belum terjawab:

1. Apakah virus HPAI H5N1 garis Asia sudah ditetapkan sebagai endemik dalam populasi unggas liar dan unggas berpindah?
2. Dapatkah virus HPAI berevolusi menjadi fenotipe yang kurang ganas dalam spesies unggas liar dan kemudian kembali menjadi virulen dalam unggas ternak?
3. Adakah peranan mamalia darat dalam penyebaran HPAIV?
4. Apakah rentang sekwensi, yang berupa penandaan tempat pembelahan secara endoproteolitik protein HA yang mempermudah terjadinya mutasi, hanya terjadi pada subtipe H5 dan H7?
5. Apa kira-kira dampak vaksinasi terhadap secara massal pada unggas ternak di Asia terhadap upaya mencegah penyebaran virus H5N1 atau perubahan antigen serta terlepasnya antigen yang berubah tersebut?
6. Apakah peralihan prevalensi LPAI subtipe H5 dan H7 dalam penampungannya yang alami juga berpotensi mempengaruhi proses evolusinya?

Secara khusus pertanyaan pertama adalah yang paling penting, yang tidak hanya terbatas bagi dunia kedokteran hewan. Endemisitas HPAIV H5N1 garis Asia dalam unggas berpindah akan menjadi ancaman tetap bagi perusahaan ternak unggas. Hal ini harus dihadapi tidak hanya dengan tindakan biosekuritas yang ketat termasuk larangan membiarkan unggas ternak bebas berkeliaran. Cara lain adalah melakukan vaksinasi massal terhadap seluruh unggas ternak. Garis ancaman kedua adalah kehadiran virus HPAI H5N1 di lingkungan alam (danau, pantai, dsb) akibat endemisitas pada unggas liar, yang dapat menjadi sisiko tambahan terjadinya paparan pada manusia. Sebegitu jauh belum ada laporan adanya penularan dari unggas liar atau lingkungan terhadap manusia. Semua laporan tentang infeksi yang terjadi pada manusia, termasuk baru-baru ini dari Turki, nampaknya diperoleh setelah terjadi amplifikasi virus pada unggas peliharaan dan kontak langsung dengan mereka.

Kompleksitas dan potensi dampak dari penularan *zoonthropotic* (dari hewan ke manusia) virus HPAI H5N1 yang semi-pandemik di kalangan unggas, memerlukan tindakan rasional dari ilmuwan, politikus, dan masyarakat.

## References

1. Alexander DJ. A review of avian influenza in different bird species. *Vet Microbiol* 2000; 74: 3-13 Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10799774>
2. Allan WH, Alexander DJ, Pomeroy BS, Parsons G. Use of virulence index tests for avian influenza viruses. *Avian Dis* 1977; 21: 359-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=907578>
3. Amonsin A, Payungporn S, Theamboonlers A, et al. Genetic characterization of H5N1 influenza A viruses isolated from zoo tigers in Thailand. *Virology* 2005; Sep 26; [Epub ahead of print] Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16194557>
4. Aymard M, Ferraris O, Gerentes L, Jolly J, Kessler N. Neuraminidase assays. *Dev Biol (Basel)* 2003; 115: 75-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15088778>
5. Banks J, Speidel ES, Moore E, Plowright L, Piccirillo A, Capua I, Cordioli P, Fioretti A, Alexander DJ. Changes in the haemagglutinin and the neuraminidase genes prior to the emergence of highly pathogenic H7N1 avian influenza viruses in Italy. *Arch Virol*. 2001;146: 963-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11448033>

6. Bano S, Naeem K, Malik SA. Evaluation of pathogenic potential of avian influenza virus serotype H9N2 in chicken. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 817-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575070>
7. Beard CW, Schnitzlein WM, Tripathy DN. Protection of chicken against highly pathogenic avian influenza virus (H5N2) by recombinant fowlpox viruses. *Avian Dis* 1991; 35: 356-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1649592>
8. Beare AS, Webster RG. Replication of avian influenza viruses in humans. *Arch Virol* 1991;119: 37-42. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1863223>
9. Beck JR, Swayne DE, Davison S, Casavant S, Gutierrez C. Validation of egg yolk antibody testing as a method to determine influenza status in white leghorn hens. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 1196-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575141>
10. Becker WB. The isolation and classification of Tern virus: influenza A-Tern South Africa—1961. *J Hyg (Lond)* 1966; 64: 309-20. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=5223681>
11. Belshe RB. The origins of pandemic influenza—lessons from the 1918 virus. *N Engl J Med*. 2005; 353: 2209-11.
12. Bridges CB, Lim W, Hu-Primmer J, et al. Risk of influenza A (H5N1) infection among poultry workers, Hong Kong, 1997-1998. *J Infect Dis* 2002; 185: 1005-10. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11930308> – Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v185n8/011256/011256.html>
13. Brown IH, Harris PA, McCauley JW, Alexander DJ. Multiple genetic reassortment of avian and human influenza A viruses in european pigs, resulting in the emergence of an H1N2 virus of novel genotype. *J Gen Virol* 1998; 79: 2947-2955. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9880008>
14. Brown IH, Hill ML, Harris PA, Alexander DJ, McCauley JW. Genetic characterisation of an influenza A virus of unusual subtype (H1N7) isolated from pigs in England. *Arch Virol* 1997; 142: 1045-50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9191869>
15. Bulaga LL, Garber L, Senne DA, et al. Epidemiologic and surveillance studies on avian influenza in live-bird markets in New York and New Jersey, 2001. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 996-1001. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575100>
16. Butt KM, Smith GJ, Chen H, Zhang LJ, Leung YH, Xu KM, Lim W, Webster RG, Yuen KY, Peiris JS, Guan Y. Human infection with an avian H9N2 influenza A virus in Hong Kong in 2003. *J Clin Microbiol*. 2005 Nov;43(11):5760-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16272514>
17. Capua I, Mutinelli F. Low pathogenicity (LPAI) and highly pathogenic (HPAI) avian influenza in turkeys and chicken. In: Capua I, Mutinelli F. (eds.), *A Colour Atlas and Text on Avian Influenza*, Papi Editore, Bologna, 2001, pp. 13-20
18. Capua I, Mutinelli F, Marangon S, Alexander DJ. H7N1 avian influenza in Italy (1999-2000) in intensively reared chicken and turkeys. *Av Pathol* 2000; 29: 537-43
19. Capua I, Marangon S, dalla Pozza M, Terregino C, Cattoli G. Avian influenza in Italy 1997-2001. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 839-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575074>
20. Cattoli G, Terregino C, Brasola V, Rodriguez JF, Capua I. Development and preliminary validation of an ad hoc N1-N3 discriminatory test for the control of avian influenza in Italy. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 1060-2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575111>
21. Cattoli G, Drago A, Maniero S, Toffan A, Bertoli E, Fassina S, Terregino C, Robbi C, Vicenzoni G, Capua I. Comparison of three rapid detection systems for type A influenza virus on tracheal swabs of experimentally and naturally infected birds. *Avian Pathol* 2004; 33: 432-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15370041>
22. Cauten AN, Swayne DE, Schultz-Cherry S, Perdue ML, Suarez DL. Continued circulation in China of highly pathogenic avian influenza viruses encoding the hemagglutinin gene associated with the 1997 H5N1 outbreak in poultry and humans. *J Virol* 2000; 74: 6592-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10864673> – Full text <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/14/6592>
23. Centanni E, Savonuzzi O, cited by Stubbs E.L.: "Fowl plague." *Diseases of Poultry*. 4th ed.; 1965.



## 32 FLU BURUNG

24. Centers for Disease Control (CDC). Interim Guidance for Protection of Persons Involved in U.S. Avian Influenza Outbreak Disease Control and Eradication Activities. Accessed on 28<sup>th</sup>-Dec-2005: <http://www.cdc.gov/flu/avian/pdf/protectionguid.pdf>
25. Chen J, Lee KH, Steinhauer DA, Stevens DJ, Skehel JJ, Wiley DC. Structure of the hemagglutinin precursor cleavage site, a determinant of influenza pathogenicity and the origin of the labile conformation. *Cell* 1998; 95: 409-17. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9814710>
26. Chen H, Deng G, Li Z, et al. The evolution of H5N1 influenza viruses in ducks in southern China. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 10452-7. Epub 2004 Jul 2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15235128> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/28/10452>
27. Chen H, Smith GJ, Zhang SY, Qin K, Wang J, Li KS, Webster RG, Peiris JS, Guan Y. Avian flu: H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature* 2005; 436: 191-2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16007072>
28. Cheung CY, Poon LL, Lau AS, Luk W, Lau YL, Shortridge KF, Gordon S, Guan Y, Peiris JS. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease? *Lancet* 2002; 360: 1831-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12480361>
29. Choi YK, Nguyen TD, Ozaki H, Webby RJ, Puthavathana P, Buranathal C, Chaisingh A, Auewarakul P, Hanh NT, Ma SK, Hui PY, Guan Y, Peiris JS, Webster RG. Studies of H5N1 influenza virus infection of pigs by using viruses isolated in Viet Nam and Thailand in 2004. *J Virol* 2005; 79: 10821-5. 16051873
30. Claas EC, Osterhaus AD, van Beek R, et al. Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet* 1998; 351: 472-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9482438>
31. Collins RA, Ko LS, So KL, Ellis T, Lau LT, Yu AC. Detection of highly pathogenic and low pathogenic avian influenza subtype H5 (EurAsian lineage) using NASBA. *J Virol Methods* 2002; 103: 213-25. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12008015>
32. Crawford J, Wilkinson B, Vosnesensky A, et al. Baculovirus-derived hemagglutinin vaccines protect against lethal influenza infections by avian H5 and H7 subtypes. *Vaccine* 1999; 17: 2265-74. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10403594>
33. Davison S, Ziegler AF, Eckroade RJ. Comparison of an antigen-capture enzyme immunoassay with virus isolation for avian influenza from field samples. *Avian Dis.* 1998; 42: 791-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9876850>
34. Drake JW. Rates of spontaneous mutation among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993; 90: 4171-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8387212> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/reprint/90/9/4171>
35. Du Ry van Beest Holle M, Meijer A, Koopmans M, de Jager C. Human-to-human transmission of avian influenza A/H7N7, The Netherlands, 2003. *Euro Surveill* 2005; 10 [Epub ahead of print]. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16371696>
36. Dybkaer K, Munch M, Handberg KJ, Jorgensen PH. Application and evaluation of RT-PCR-ELISA for the nucleoprotein and RT-PCR for detection of low-pathogenic H5 and H7 subtypes of avian influenza virus. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 51-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14974847>
37. Elbers AR, Kamps B, Koch G. Performance of gross lesions at postmortem for the detection of outbreaks during the avian influenza A virus (H7N7) epidemic in The Netherlands in 2003. *Avian Pathol* 2004; 33: 418-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15370039>
38. Elbers AR, Koch G, Bouma A. Performance of clinical signs in poultry for the detection of outbreaks during the avian influenza A (H7N7) epidemic in The Netherlands in 2003. *Avian Pathol* 2005; 34: 181-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16191700>
39. Feldmann A, Schafer MK, Garten W, Klenk HD. Targeted infection of endothelial cells by avian influenza virus A/FPV/Rostock/34 (H7N1) in chicken embryos. *J Virol* 2000; 74: 8018-27. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10933711> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/17/8018>

40. Ferguson NM, Galvani AP, Bush RM. Ecological and immunological determinants of influenza evolution. *Nature*. 2003; 422: 428-33. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12660783>
41. Fouchier RA, Bestebroer TM, Herfst S, Van Der Kemp L, Rimmelzwaan GF, Osterhaus AD. Detection of influenza A viruses from different species by PCR amplification of conserved sequences in the matrix gene. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 4096-101. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11060074>
42. Fouchier RA, Olsen B, Bestebroer TM, et al. Influenza A virus surveillance in wild birds in Northern Europe in 1999 and 2000. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 857-60. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575077>
43. Fouchier RA, Schneeberger PM, Rozendaal FW, Broekman JM, Kemink SA, Munster V, Kuiken T, Rimmelzwaan GF, Schutten M, Van Doornum GJ, Koch G, Bosman A, Koopmans M, Osterhaus AD. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 1356-61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14745020> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/5/1356>
44. Fouchier RA, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J Virol* 2005; 79: 2814-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15709000>
45. Gabriel G, Dauber B, Wolff T, Planz O, Klenk HD, Stech J. The viral polymerase mediates adaptation of an avian influenza virus to a mammalian host. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 18590-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16339318>
46. Gambaryan AS, Tuzikov AB, Pazynina GV, Webster RG, Matrosovich MN, Bovin NV. H5N1 chicken influenza viruses display a high binding affinity for Neu5Acalpha2-3Galbeta1-4(6-HSO3)GlcNAc-containing receptors. *Virology*. 2004; 326: 310-6.
47. Gambaryan A, Yamnikova S, Lvov D, et al. Receptor specificity of influenza viruses from birds and mammals: new data on involvement of the inner fragments of the carbohydrate chain. *Virology* 2005; 334: 276-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15780877>
48. Gambaryan A, Tuzikov A, Pazynina G, Bovin N, Balish A, Klimov A. Evolution of the receptor binding phenotype of influenza A (H5) viruses. *Virology* 2006; 344: 432-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16226289>
49. Garcia M, Crawford JM, Latimer JW, Rivera-Cruz E, Perdue ML. Heterogeneity in the hemagglutinin gene and emergence of the highly pathogenic phenotype among recent H5N2 avian influenza viruses from Mexico. *J Gen Virol* 1996; 77: 1493-504. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8757992>
50. Garcia A, Johnson H, Srivastava DK, Jayawardene DA, Wehr DR, Webster RG. Efficacy of inactivated H5N2 influenza vaccines against lethal A/Chicken/Queretaro/19/95 infection. *Avian Dis* 1998; 42: 248-56. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9645315>
51. Garman E, Laver G. Controlling influenza by inhibiting the virus's neuraminidase. *Curr Drug Targets* 2004; 5: 119-36. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15011946>
52. Giannecchini S, Campitelli L, Calzoletti L, De Marco MA, Azzi A, Donatelli I. Comparison of in vitro replication features of H7N3 influenza viruses from wild ducks and turkeys: potential implications for interspecies transmission. *J Gen Virol* 2006; 87: 171-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16361429>
53. Gorman OT, Bean WJ, Webster RG. Evolutionary processes in influenza viruses: divergence, rapid evolution, and stasis. *Curr Top Microbiol Immunol* 1992; 176: 75-97. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1600756>
54. Govorkova EA, Rehg JE, Krauss S, Yen HL, Guan Y, Peiris M, Nguyen TM, Hanh TH, Puthavathana P, Long HT, Buranathai C, Lim W, Webster RG, Hoffmann E. Lethality to ferrets of H5N1 influenza viruses isolated from humans and poultry in 2004. *J Virol* 2005; 79: 2191-2198. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15681421>
55. Guan Y, Peiris JS, Lipatov AS, et al. Emergence of multiple genotypes of H5N1 avian influenza viruses in Hong Kong SAR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002a; 99: 8950-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12077307> – Full text <http://www.pnas.org/cgi/content/full/99/13/8950>

## 34 FLU BURUNG

56. Guan Y, Peiris JS, Poon LL, et al. Reassortants of H5N1 influenza viruses recently isolated from aquatic poultry in Hong Kong SAR. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 911-3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575085>
57. Guan Y, Peiris M, Kong KF, et al. H5N1 influenza viruses isolated from geese in Southeastern China: evidence for genetic reassortment and interspecies transmission to ducks. *Virology* 2002b; 292: 16-23. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11878904>
58. Guan Y, Poon LL, Cheung CY, Ellis TM, Lim W, Lipatov AS, Chan KH, Sturm-Ramirez KM, Cheung CL, Leung YH, Yuen KY, Webster RG, Peiris JS. H5N1 influenza: a protean pandemic threat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 8156-61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15148370> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/21/8156>
59. Guo Y, Wang M, Kawaoka Y, Gorman O, Ito T, Saito T, Webster RG. Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology* 1992; 188: 245-55. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1314452>
60. Haque ME, Koppaka V, Axelsen PH, Lentz BR. Properties and Structures of the Influenza and HIV Fusion Peptides on Lipid Membranes: Implications for a Role in Fusion. *Biophys J*. 2005; 89:3183-94. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16183890>
61. Harvey R, Martin AC, Zambon M, Barclay WS. Restrictions to the adaptation of influenza a virus h5 hemagglutinin to the human host. *J Virol*. 2004; 78: 502-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14671130> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/1/502>
62. Hatta M, Gao P, Halfmann P, Kawaoka Y. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. 2001; *Science* 293: 1840-1842. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11546875>
63. Hayden F, Croisier A. Transmission of avian influenza viruses to and between humans. *J Infect Dis* 2005;192: 1311-4.
64. Heinen P (2002). Swine influenza: a zoonosis. *Vet. Sci. Tomorrow*, September 2003. <http://www.vetscite.org/publish/articles/000041/print.html>
65. Henzler DJ, Kradel DC, Davison S, et al. Epidemiology, production losses, and control measures associated with an outbreak of avian influenza subtype H7N2 in Pennsylvania (1996-98). *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 1022-36. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575105>
66. Herrler G, Hausmann J, Klenk HD. Sialic acid as receptor determinant of ortho- and paramyxoviruses. In: Rosenberg A (ed), *Biology of the Sialic Acids*, Plenum Press NY, 1995: p. 315-336
67. Hoffmann E, Stech J, Leneva I, et al. Characterization of the influenza A virus gene pool in avian species in southern China: was H6N1 a derivative or a precursor of H5N1? *J Virol* 2000; 74: 6309-15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10864640> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/14/6309>
68. Horimoto T, Nakayama K, Smeekens SP, Kawaoka Y. Proprotein-processing endoproteases PC6 and furin both activate hemagglutinin of virulent avian influenza viruses. *J Virol* 1994; 68: 6074-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8057485> – Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=8057485>
69. Horimoto T, Kawaoka Y. Molecular changes in virulent mutants arising from avirulent avian influenza viruses during replication in 14-day-old embryonated eggs. *Virology* 1995; 206: 755-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7831837>
70. Hulse-Post DJ, Sturm-Ramirez KM, Humberd J, et al. Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10682-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16030144>
71. Ito T, Kawaoka Y, Nomura A, Otsuki K. Receptor specificity of influenza A viruses from sea mammals correlates with lung sialyloligosaccharides in these animals. *J Vet Med Sci* 1999; 61: 955-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10487239>
72. Ito T, Okazaki K, Kawaoka Y, Takada A, Webster RG, Kida H (1995). Perpetuation of influenza A viruses in Alaskan waterfowl reservoirs. *Arch.Virol.* 140, 1163-1172. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7646350>

73. Ito T, Goto H, Yamamoto E, et al. Generation of a highly pathogenic avian influenza A virus from an avirulent field isolate by passaging in chicken. *J Virol* 2001; 75: 4439-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11287597> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/9/4439>
74. Ito T, Couceiro JN, Kelm S, et al. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *J Virol* 1998; 72: 7367-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9696833> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/72/9/7367>
75. Jin M, Wang G, Zhang R, Zhao S, Li H, Tan Y, Chen H. Development of enzyme-linked immunosorbent assay with nucleoprotein as antigen for detection of antibodies to avian influenza virus. *Avian Dis* 2004; 48: 870-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15666868>
76. Jones YL, Swayne DE. Comparative pathobiology of low and high pathogenicity H7N3 Chilean avian influenza viruses in chicken. *Avian Dis* 2004; 48: 119-28. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15077805>
77. Karasin AI, Brown IH, Carman S, Olsen CW. Isolation and characterization of H4N6 avian influenza viruses from pigs with pneumonia in Canada. *J Virol* 2000; 74: 9322-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10982381>
78. Katz JM, Lim W, Bridges CB, et al. Antibody response in individuals infected with avian influenza A (H5N1) viruses and detection of anti-H5 antibody among household and social contacts. *J Infect Dis* 1999; 180: 1763-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10558929> – Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v180n6/990415/990415.html>
79. Kawaoka Y, Naeve CW, Webster RG. Is virulence of H5N2 influenza viruses in chicken associated with loss of carbohydrate from the hemagglutinin? *Virology* 1984; 139: 303-16. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=6516214>
80. Kaye D, Pringle CR. Avian influenza viruses and their implication for human health. *Clin Infect Dis* 2005; 40: 108-12. Epub 2004 Dec 7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15614699>
81. Keawcharoen J, Oraveerakul K, Kuiken T, et al. Avian influenza H5N1 in tigers and leopards. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 2189-91. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15663858> – Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol10no12/04-0759.htm>
82. Kessler N, Ferraris O, Palmer K, Marsh W, Steel A. Use of the DNA flow-thru chip, a three-dimensional biochip, for typing and subtyping of influenza viruses. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2173-85. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15131186>
83. Kida H, Ito T, Yasuda J, et al. Potential for transmission of avian influenza viruses to pigs. *J Gen Virol* 1994; 75: 2183-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8077918>
84. Kim JA, Ryu SY, Seo SH. Cells in the respiratory and intestinal tracts of chicken have different proportions of both human and avian influenza virus receptors. *J Microbiol* 2005; 43: 366-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16145552>
85. Klenk HD. Infection of the endothelium by influenza viruses. *Thromb Haemost* 2005; 94: 262-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16113814>
86. Klempner MS, Shapiro DS. Crossing the species barrier – one small step to man, one giant leap to mankind. *N Engl J Med* 2004; 350: 1171-2. Epub 2004 Feb 25. <http://amedeo.com/lit.php?id=14985471>
87. Klopfeisch R, Werner O, Mundt E, Harder T, Teifke JP. Neurotropism of highly pathogenic avian influenza virus A/chicken/Indonesia/2003 (H5N1) in experimentally infected pigeons (*Columbia livia f. domestica*). *Vet Pathol* 2006; in press
88. Kodihalli S, Haynes JR, Robinson HL, Webster RG. Cross-protection among lethal H5N2 influenza viruses induced by DNA vaccine to the hemagglutinin. *J Virol* 1997; 71: 3391-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9094608> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/reprint/71/5/3391>
89. Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, et al. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. *Lancet* 2004; 363: 587-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14987882>

90. Krauss S, Walker D, Pryor SP, Niles L, Chenghong L, Hinshaw VS, Webster RG. Influenza A viruses of migrating wild aquatic birds in North America. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2004; 4: 177-89. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15631061>
91. Kuiken T, Rimmelzwaan G, van Riel D, et al. Avian H5N1 influenza in cats. *Science* 2004; 306: 241. Epub 2004 Sep 2. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15345779>
92. Kwon YK, Joh SJ, Kim MC, Sung HW, Lee YJ, Choi JG, Lee EK, Kim JH. Highly pathogenic avian influenza (H5N1) in the commercial domestic ducks of South Korea. *Avian Pathol* 2005; 34: 367-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16147575>
93. Landman WJ, Schrier CC. Avian influenza: eradication from commercial poultry is still not in sight. *Tijdschr. Diergeneeskd* 2004; 129: 782-96. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15624878>
94. Le QM, Kiso M, Someya K, et al. Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature* 2005; 437: 1108. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16228009>
95. Lee CW, Suarez DL. Application of real-time RT-PCR for the quantitation and competitive replication study of H5 and H7 subtype avian influenza virus. *J Virol Methods*. 2004; 119: 151-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15158597>
96. Lee CW, Swayne DE, Linares JA, Senne DA, Suarez DL. H5N2 avian influenza outbreak in Texas in 2004: the first highly pathogenic strain in the United States in 20 years? *J Virol* 2005; 79: 11412-21. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16103192>
97. Lee CW, Senne DA, Suarez DL. Generation of reassortant influenza vaccines by reverse genetics that allows utilization of a DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) strategy for the control of avian influenza. *Vaccine* 2004; 22: 3175-81. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15297071>
98. Lee CW, Suarez DL. Avian influenza virus: prospects for prevention and control by vaccination. *Anim Health Res Rev.* 2005; 6: 1-15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16164006>
99. Lees W. The 2004 outbreak of highly pathogenic avian influenza (H7N3) in British Columbia. *Cahnet Bull* 2004; 9: 4-10. <http://www.cahnet.org/bulletinsE/CahnetBulletin9english.pdf>
100. Li J, Chen S, Evans DH. Typing and subtyping influenza virus using DNA microarrays and multiplex reverse transcriptase PCR. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 696-704. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11158130>
101. Li KS, Xu KM, Peiris JS, et al. Characterization of H9 subtype influenza viruses from the ducks of southern China: a candidate for the next influenza pandemic in humans? *J Virol* 2003; 77: 6988-94. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12768017> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/77/12/6988>
102. Li KS, Guan Y, Wang J, et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature* 2004; 430: 209-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15241415>
103. Li SQ, Orlich M, Rott R. Generation of seal influenza virus variants pathogenic for chicken, because of hemagglutinin cleavage site changes. *J Virol* 1990; 64: 3297-303. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2191148> – Full text at <http://www.pubmedcentral.gov/articlerender.fcgi?pubmedid=2191148>
104. Li C, Yu K, Tian G, Yu D, Liu L, Jing B, Ping J, Chen H. Evolution of H9N2 influenza viruses from domestic poultry in Mainland China. *Virology* 2005b; 340: 70-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16026813>
105. Li Z, Chen H, Jiao P, Deng G, Tian G, Li Y, Hoffmann E, Webster RG, Matsuoka Y, Yu K. Molecular basis of replication of duck H5N1 influenza viruses in a mammalian mouse model. 2005a; *J Virol* 79; 12058-12064. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16140781>
106. Lin YP, Shaw M, Gregory V, Cameron K, Lim W, Klimov A, Subbarao K, Guan Y, Krauss S, Shortridge K, Webster R, Cox N, Hay A. Avian-to-human transmission of H9N2 subtype influenza A viruses: relationship between H9N2 and H5N1 human isolates. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; 97: 9654-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10920197> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/97/17/9654>
107. Lipatov AS, Krauss S, Guan Y, et al. Neurovirulence in mice of H5N1 influenza virus genotypes isolated from Hong Kong poultry in 2001. *J Virol* 2003; 77: 3816-23. Abstract:

- <http://amedeo.com/lit.php?id=12610156> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/77/6/3816>
108. Lipatov AS, Govorkova EA, Webby RJ et al. Influenza: Emergence and control. *J Virol* 2004; 78: 8951-8959. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15308692> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/17/8951>
  109. Lipatov AS, Andreansky S, Webby RJ, Hulse DJ, Rehg JE, Krauss S, Perez DR, Doherty PC, Webster RG, Sangster MY. Pathogenesis of Hong Kong H5N1 influenza virus NS gene reassortants in mice: the role of cytokines and B- and T-cell responses. *J Gen Virol* 2005; 86: 1121-30. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15784906> – Full text at <http://vir.sgmjournals.org/cgi/content/full/86/4/1121>
  110. Liu M, Wood JM, Ellis T, Krauss S, Seiler P, Johnson C, Hoffmann E, Humbert J, Hulse D, Zhang Y, Webster RG, Perez DR. Preparation of a standardized, efficacious agricultural H5N3 vaccine by reverse genetics. *Virology*. 2003; 314: 580-90. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14554086>
  111. Liu J, Xiao H, Lei F, et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science* 2005; 309: 1206. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16000410>
  112. Lu X, Tumpey TM, Morken T, Zaki SR, Cox NJ, Katz JM. A mouse model for the evaluation of pathogenesis and immunity to influenza A (H5N1) viruses isolated from humans. *J Virol* 1999; 73: 5903-11. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10364342> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/73/7/5903>
  113. Lu H, Castro AE, Pennick K, Liu J, Yang Q, Dunn P, Weinstock D, Henzler D. Survival of avian influenza virus H7N2 in SPF chickens and their environments. *Avian Dis.* 2003; 47: 1015-21. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575104>
  114. Luschow D, Werner O, Mettenleiter TC, Fuchs W. Vaccination with infectious laryngotracheitis virus recombinants expressing the hemagglutinin (H5) gene. *Vaccine*. 2001 Jul 20;19(30):4249-59. <http://amedeo.com/lit.php?id=11457552>
  115. Maines TR, Lu XH, Erb SM, et al. Avian influenza (H5N1) viruses isolated from humans in Asia in 2004 exhibit increased virulence in mammals. *J Virol* 2005; 79: 11788-800. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16140756>
  116. Mannelli A, Ferre N, Marangon S. Analysis of the 1999-2000 highly pathogenic avian influenza (H7N1) epidemic in the main poultry-production area in northern Italy. *Prev Vet Med.* 2005 Oct 19; [Epub ahead of print]. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16243405>
  117. Marangon S, Capua I, Pozza G, Santucci U. field experiences in the control of avian influenza outbreaks in densely populated poultry areas. *Dev Biol (Basel)* 2004; 119: 155-64. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15742627>
  118. Marangon S, Capua I. Control of AI in Italy: from „Stamping-out“-strategy to emergency and prophylactic vaccination. In: *Proc. Internat. Conf on Avian Influenza, Paris 2005; O.I.E., p. 29.*
  119. Matrosovich MN, Zhou N, Kawaoka Y, Webster R. The surface glycoproteins of H5 influenza viruses isolated from humans, chicken, and wild aquatic birds have distinguishable properties. *J Virol.* 1999; 73: 1146-55. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9882316> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/73/2/1146>
  120. Matrosovich MN, Krauss S, Webster RG. H9N2 influenza A viruses from poultry in Asia have human virus-like receptor specificity. *Virology* 2001; 281: 156-62. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11277689>
  121. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004b; 101: 4620-4. Epub 2004 Mar 15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15070767> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/13/4620>
  122. Matrosovich MN, Matrosovich TY, Gray T, Roberts NA, Klenk HD. Neuraminidase is important for the initiation of influenza virus infection in human airway epithelium. *J Virol.* 2004a; 78: 12665-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15070767> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/101/13/4620>

123. Meulemans G, Carlier MC, Gonze M, Petit P. Comparison of hemagglutination-inhibition, agar gel precipitin, and enzyme-linked immunosorbent assay for measuring antibodies against influenza viruses in chicken. *Avian Dis* 1987; 31: 560-3. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2960313>
124. Mo IP, Brugh M, Fletcher OJ, Rowland GN, Swayne DE. Comparative pathology of chicken experimentally inoculated with avian influenza viruses of low and high pathogenicity. *Avian Dis* 1997; 41: 125-36. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9087329>
125. Mutinelli F, Capua I, Terregino C, Cattoli G. Clinical, gross, and microscopic findings in different avian species naturally infected during the H7N1 low- and high-pathogenicity avian influenza epidemics in Italy during 1999 and 2000. *Avian Dis* 2003a; 47: Suppl: 844-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575075>
126. Mutinelli F, Habelovirid H, Capua I. Avian embryo susceptibility to Italian H7N1 avian influenza viruses belonging to different lineages. *Avian Dis* 2003b; 47: Suppl: 1145-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575131>
127. Nakatani H, Nakamura K, Yamamoto Y, Yamada M, Yamamoto Y. Epidemiology, pathology, and immunohistochemistry of layer hens naturally affected with H5N1 highly pathogenic avian influenza in Japan. *Avian Dis* 2005; 49: 436-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16252503>
128. Neumann G, Hatta M, Kawaoka Y. Reverse genetics for the control of avian influenza. *Avian Dis*. 2003;47(3 Suppl):882-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575081>
129. Neumann G, Brownlee GG, Fodor E, Kawaoka Y. Orthomyxovirus replication, transcription, and polyadenylation. *Curr Top Microbiol Immunol* 2004; 283: 121-43. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15298169>
130. Nestorowicz A, Kawaoka Y, Bean WJ, Webster RG. Molecular analysis of the hemagglutinin genes of Australian H7N7 influenza viruses: role of passerine birds in maintenance or transmission? *Virology* 1987; 160: 411-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3660587>
131. Ng EK, Cheng PK, Ng AY, Hoang TL, Lim WW. Influenza A H5N1 detection. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1303-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16102326> – Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no08/04-1317.htm>
132. Normile D. Avian influenza. China will attempt largest-ever animal vaccination campaign. *Science*. 2005; 310: 1256-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16311302>
133. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.1.14. Avian influenza. [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_00037.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm) – Accessed 28 December 2005
134. OIE. Terrestrial Animal Health Code. Chapter 2.7.12. Avian influenza. [http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en\\_chapitre\\_2.7.12.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_2.7.12.htm) – Accessed 28 December 2005
135. OIE 2005 (World Organisation for Animal Health). Highly pathogenic avian influenza in Mongolia: in migratory birds. [http://www.oie.int/eng/info/hebd0/ais\\_55.htm](http://www.oie.int/eng/info/hebd0/ais_55.htm) – Accessed 31 octobre 2005.
136. Okazaki K, Takada A, Ito T, et al. Precursor genes of future pandemic influenza viruses are perpetuated in ducks nesting in Siberia. *Arch Virol* 2000; 145: 885-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10881676>
137. Olsen CW. The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Res* 2002; 85:199-210. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12034486>
138. Pasick J, Handel K, Robinson J, et al. Intersegmental recombination between the hemagglutinin and matrix genes was responsible for the emergence of a highly pathogenic H7N3 avian influenza virus in British Columbia. *J Gen Virol* 2005; 86: 727-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15722533>
139. Payungporn S, Phakdeewit P, Chutinimitkul S, Theamboonlers A, Keawcharoen J, Oraveerakul K, Amonsin A, Poovorawan Y. Single-step multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for influenza A virus subtype H5N1 detection. *Viral Immunol* 2004; 17: 588-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15671756>

140. Pearson JE. International standards for the control of avian influenza. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 972-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575096>
141. Peiris JS, Guan Y, Markwell D, Ghose P, Webster RG, Shortridge KF. Cocirculation of avian H9N2 and contemporary 'human' H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment? *J Virol* 2001; 75: 9679-86. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11559800> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/20/9679>
142. Perez DR, Lim W, Seiler JP, et al. Role of quail in the interspecies transmission of H9 influenza A viruses: molecular changes on HA that correspond to adaptation from ducks to chicken. *J Virol* 2003; 77: 3148-56. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12584339> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/77/5/3148>
143. Perdue ML, Garcia M, Senne D, Fraire M. Virulence-associated sequence duplication at the hemagglutinin cleavage site of avian influenza viruses. *Virus Res* 1997; 49: 173-86. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9213392>
144. Perdue ML, Suarez DL. Structural features of the avian influenza virus hemagglutinin that influence virulence. *Vet Microbiol* 2000; 74: 77-86. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10799780>
145. Perdue ML. Molecular diagnostics in an insecure world. *Avian Dis* 2003; 47: 1063-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575112>
146. Perkins LE, Swayne DE. Pathogenicity of a Hong Kong-origin H5N1 highly pathogenic avian influenza virus for emus, geese, ducks, and pigeons. *Avian Dis* 2002a; 46: 53-63. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11924603>
147. Perkins LE, Swayne DE. Susceptibility of laughing gulls (*Larus atricilla*) to H5N1 and H5N3 highly pathogenic avian influenza viruses. *Avian Dis* 2002b; 46: 877-85. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12495048>
148. Perkins LE, Swayne DE. Comparative susceptibility of selected avian and mammalian species to a Hong Kong-origin H5N1 high-pathogenicity avian influenza virus. *Avian Dis* 2003;47(3 Suppl):956-67. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575094>
149. Perroncito CE. [it. Typhoid epizootic in gallinaceous birds.] Epizoozia tifoide nei gallinacei. Torino: Annali Accademia Agricoltura 1878; 21:87–126.
150. Phipps LP, Essen SC, Brown IH. Genetic subtyping of influenza A viruses using RT-PCR with a single set of primers based on conserved sequences within the HA2 coding region. *J Virol Methods* 2004;122:119-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15488629>
151. ProMED 20050826.2527. Avian influenza H5N1, Civets 2005. Archive number 20050826.2527. Available at <http://www.promedmail.org/pls/promed>
152. ProMED 20060110.0090. Japan: Mild Avian Influenza Virus Infection Too Risky to Ignore. Archive number 20060110.0090. Available at <http://www.promedmail.org/pls/promed>
153. Puzelli S, Di Trani L, Fabiani C, et al. Serological analysis of serum samples from humans exposed to avian H7 influenza viruses in Italy between 1999 and 2003. *J Infect Dis* 2005; 192: 1318-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16170747> – Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v192n8/34097/34097.html>
154. Quirk M. Zoo tigers succumb to avian influenza. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:716. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15593440>
155. Rimmelzwaan GF, Kuiken T, van Amerongen G, Bestebroer TM, Fouchier RA, Osterhaus ADME. Pathogenesis of influenza A (H5N1) virus infection in a primate model. *J Virol* 2001; 77: 3148-3156. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11413336> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/14/6687>
156. Rogers SO, Starmer WT, Castello JD. Recycling of pathogenic microbes through survival in ice. *Med Hypotheses* 2004; 63: 773-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15488645>
157. Rohm C, Horimoto T, Kawaoka Y, Suss J, Webster RG. Do hemagglutinin genes of highly pathogenic avian influenza viruses constitute unique phylogenetic lineages? *Virology* 1995; 209: 664-70. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7778300>
158. Rott R, Orlich M, Scholtissek C. Correlation of pathogenicity and gene constellation of influenza A viruses. III. Non-pathogenic recombinants derived from highly pathogenic



- parent strains. *J Gen Virol* 1979; 44: 471-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=521799>
159. Rott R, Klenk HD, Nagai Y, Tashiro M. Influenza viruses, cell enzymes, and pathogenicity. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995; 152: S16-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7551406>
160. Rust MJ, Lakadamyali M, Zhang F, Zhuang X. Assembly of endocytic machinery around individual influenza viruses during viral entry. *Nat Struct Mol Biol* 2004; 11: 567-73. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15122347>
161. Saito T, Lim W, Suzuki T, et al. Characterization of a human H9N2 influenza virus isolated in Hong Kong. *Vaccine* 2001; 20: 125-33. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11567756>
162. Sala G, Cordioli P, Moreno-Martin A, et al. ELISA test for the detection of influenza H7 antibodies in avian sera. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 1057-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575110>
163. Schäfer W. Vergleichende sero-immunologische Untersuchungen über die Viren der Influenza und klassischen Geflügelpest. *Zeitschr Naturforschung* 1955; 10b: 81-91
164. Scholtissek C, Hinshaw VS, Olsen CW. Influenza in pigs and their role as the intermediate host. In: Nicholson KG, Webster RG, Hay AJ (eds.), *Textbook of Influenza*, Blackwell Scientific, Oxford, 1998; p 137-145
165. Selleck PW, Lowther SL, Russell GM, Hooper PT. Rapid diagnosis of highly pathogenic avian influenza using pancreatic impression smears. *Avian Dis* 2003; 47 (3 Suppl): 1190-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575140>
166. Senne DA, Panigrahy B, Kawaoka Y, et al. Survey of the hemagglutinin (HA) cleavage site sequence of H5 and H7 avian influenza viruses: amino acid sequence at the HA cleavage site as a marker of pathogenicity potential. *Avian Dis* 1996; 40: 425-37. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8790895>
167. Seo SH, Goloubeva O, Webby R, Webster RG. Characterization of a porcine lung epithelial cell line suitable for influenza virus studies. *J Virol* 2001; 75: 9517-25. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11533214> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/75/19/9517>
168. Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses. 2002; *Nat Med* 8: 950-954. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12195436>
169. Seo SH, Hoffmann E, Webster RG. The NS1 gene of H5N1 influenza viruses circumvents the host anti-viral cytokine responses. *Virus Res* 2004; 103: 107-13. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15163498>
170. Shafer AL, Katz JB, Eernisse KA. Development and validation of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for detection of type A influenza antibodies in avian sera. *Avian Dis*. 1998; 42: 28-34. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9533078>
171. Shinya K, Hamm S, Hatta M, Ito H, Ito T, Kawaoka Y. PB2 amino acid at position 627 affects replicative efficiency but not cell tropism of Hong Kong H5N1 influenza viruses in mice. *Virology* 2004; 320: 258-266. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15016548>
172. Shortridge KF. Pandemic influenza: a zoonosis? *Semin Respir Infect* 1992; 7: 11-25. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1609163>
173. Shortridge KF, Zhou NN, Guan Y, et al. Characterization of avian H5N1 influenza viruses from poultry in Hong Kong. *Virology*. 1998 Dec 20;252(2):331-42. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9878612>
174. Sidorenko Y, Reichl U. Structured model of influenza virus replication in MDCK cells. *Biotechnol Bioeng* 2004; 88: 1-14. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15384040>
175. Skehel JJ, Cross K, Steinhauer D, Wiley DC. Influenza fusion peptides. *Biochem Soc Trans*. 2001; 29: 623-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11498040>
176. Smith AW, Skilling DE, Castello JD, Rogers SO. Ice as a reservoir for pathogenic human viruses: specifically, caliciviruses, influenza viruses, and enteroviruses. *Med Hypotheses* 2004; 63: 560-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15324997>

177. Snyder DB, Marquardt WW, Yancey FS, Savage PK. An enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody against avian influenza virus. *Avian Dis* 1985; 29: 136-44. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=3985870>
178. Spackman E, Senne DA, Myers TJ, et al. Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 3256-60. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=12202562>
179. Stallknecht DE, Shane SM, Kearney MT, Zwank PJ. Persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Dis* 1990a; 34: 406-11. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2142420>
180. Stallknecht DE, Kearney MT, Shane SM, Zwank PJ. Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Dis* 1990b; 34: 412-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=2142421>
181. Stech J, Garn H, Wegmann M, Wagner R, Klenk HD. A new approach to an influenza live vaccine: modification of the cleavage site of hemagglutinin. 2005; *Nat Med* 11: 683-689. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15924146>
182. Stegeman A, Bouma A, Elbers AR, et al. Avian influenza A virus (H7N7) epidemic in The Netherlands in 2003: course of the epidemic and effectiveness of control measures. *J Infect Dis* 2004; 190: 2088-95. Epub 2004 Nov 15. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15551206> – Full text at <http://www.journals.uchicago.edu/JID/journal/issues/v190n12/32647/32647.html>
183. Steinhauer DA. Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus. *Virology* 1999; 258: 1-20. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10329563>
184. Sturm-Ramirez KM, Ellis T, Bousfield B, et al. Reemerging H5N1 influenza viruses in Hong Kong in 2002 are highly pathogenic to ducks. *J Virol* 2004; 78: 4892-901. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15078970> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/9/4892>
185. Suarez DL, Schultz-Cherry S. Immunology of avian influenza virus: a review. *Dev Comp Immunol*. 2000; 24: 269-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10717293>
186. Suarez DL, Senne DA, Banks J, Brown IH, Essen SC, Lee CW, Manvell RJ, Mathieu-Benson C, Moreno V, Pedersen JC, Panigrahy B, Rojas H, Spackman E, Alexander DJ. Recombination resulting in virulence shift in avian influenza outbreak, Chile. *Emerg Infect Dis* 2004; 10: 693-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15200862> – Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol10no4/03-0396.htm>
187. Suarez DL. Overview of avian influenza DIVA test strategies. *Biologicals*. 2005; 33: 221-6 Epub 2005 Oct 28. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16257543>
188. Suzuki Y, Ito T, Suzuki T, Holland RE Jr, Chambers TM, Kiso M, Ishida H, Kawaoka Y. Sialic acid species as a determinant of the host range of influenza A viruses. *J Virol* 2000; 74:11825-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11090182> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/74/24/11825>
189. Suzuki Y. Sialobiology of influenza: molecular mechanism of host range variation of influenza viruses. *Biol Pharm Bull* 2005; 28: 399-408. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15744059>
190. Swayne DE, Suarez DL. Highly pathogenic avian influenza. *Rev Sci Tech* 2000a; 19: 463-8. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10935274>
191. Swayne DE, Beck JR, Kinney N. Failure of a recombinant fowl poxvirus vaccine containing an avian influenza hemagglutinin gene to provide consistent protection against influenza in chicken preimmunized with a fowl pox vaccine. *Avian Dis* 2000b; 44: 132-7. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10737653>
192. Swayne DE, Beck JR, Mickle TR. Efficacy of recombinant fowl poxvirus vaccine in protecting chicken against a highly pathogenic Mexican-origin H5N2 avian influenza virus. *Avian Dis* 1997; 41: 910-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9454926>
193. Swayne DE, Beck JR, Perdue ML, Beard CW. Efficacy of vaccines in chicken against highly pathogenic Hong Kong H5N1 avian influenza. *Avian Dis* 2001; 45: 355-65. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11417815>

194. Swayne DE, Garcia M, Beck JR, Kinney N, Suarez DL. Protection against diverse highly pathogenic H5 avian influenza viruses in chicken immunized with a recombinant fowlpox vaccine containing an H5 avian influenza hemagglutinin gene insert. *Vaccine* 2000c; 18: 1088-95. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10590330>
195. Swayne DE, Suarez DL, Schultz-Cherry S, et al. Recombinant paramyxovirus type 1-avian influenza-H7 virus as a vaccine for protection of chicken against influenza and Newcastle disease. *Avian Dis* 2003; 47: Suppl: 1047-50. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14575108>
196. Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G, Fanning TG. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*. 2005 Oct 6;437(7060):889-93. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16208372>
197. Thanawongnuwech R, Amonsin A, Tantilertcharoen R, et al. Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza H5N1. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 699-701. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15890122> – Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no05/05-0007.htm>
198. Tian G, Zhang S, Li Y, Bu Z, Liu P, Zhou J, Li C, Shi J, Yu K, Chen H. Protective efficacy in chicken, geese and ducks of an H5N1-inactivated vaccine developed by reverse genetics. *Virology* 2005; 341: 153-62. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16084554>
199. Tumpey TM, Alvarez R, Swayne DE, Suarez DL. Diagnostic approach for differentiating infected from vaccinated poultry on the basis of antibodies to NS1, the nonstructural protein of influenza A virus. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 676-83. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15695663>
200. van der Goot JA, Koch G, de Jong MC, van Boven M. Quantification of the effect of vaccination on transmission of avian influenza (H7N7) in chickens. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102: 18141-6. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16330777> – Full text at <http://www.pnas.org/cgi/content/full/102/50/18141>
201. Veits J, Luschow D, Kindermann K, et al. Deletion of the non-essential UL0 gene of infectious laryngotracheitis (ILT) virus leads to attenuation in chicken, and UL0 mutants expressing influenza virus hemagglutinin (H7) protect against ILT and fowl plague. *J Gen Virol* 2003; 84: 3343-52. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=14645915>
202. Wagner R, Matrosovich M, Klenk HD. Functional balance between haemagglutinin and neuraminidase in influenza virus infections. *Rev Med Virol* 2002; 12: 159-66. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11987141>
203. Wagner R, Herwig A, Azzouz N, Klenk HD. Acylation-mediated membrane anchoring of avian influenza virus hemagglutinin is essential for fusion pore formation and virus infectivity. *J Virol* 2005; 79: 6449-58. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15858028> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/79/10/6449>
204. Walker JA, Kawaoka Y. Importance of conserved amino acids at the cleavage site of the haemagglutinin of a virulent avian influenza A virus. *J Gen Virol* 1993; 74: 311-4. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8429306>
205. Wan H, Perez DR. Quail carry sialic acid receptors compatible with binding of avian and human influenza viruses. *Virology*. 2005 Dec 1; [Epub ahead of print]. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16325879>
206. Watowich SJ, Skehel JJ, Wiley DC. Crystal structures of influenza virus hemagglutinin in complex with high-affinity receptor analogs. *Structure* 1994; 2: 719-31. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=7994572>
207. Webster RG, Yakhno MA, Hinshaw VS, Bean WJ, Murti KG. Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology* 1978; 84: 268-78. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=23604>
208. Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM, Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 1992; 56: 152-79. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=1579108>
209. Webster RG. Influenza: An emerging disease. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 436-41. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9716966> – Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no3/webster.htm>
210. Webster RG, Hulse DJ. Microbial adaptation and change: avian influenza. *Rev Sci Tech*. 2004; 23: 453-65. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15702713>

211. Webster RG, Peiris M, Chen H, Guan Y. H5N1 outbreaks and enzootic influenza. *Emerg Infect Dis* 2006; 12: 3-8 – Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no01/05-1024.htm>
212. Whittaker G, Bui M, Helenius A. The role of nuclear import and export in influenza virus infection. *Trends Cell Biol.* 1996 Feb;6(2):67-71. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15157497>
213. WHO 2004/01/22. Avian influenza H5N1 infection in humans: urgent need to eliminate the animal reservoir. [http://www.who.int/csr/don/2004\\_01\\_22/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2004_01_22/en/index.html) – Accessed 31 October 2005.
214. WHO 2004/03/02. Avian influenza A(H5N1)- update 31: Situation (poultry) in Asia: need for a long-term response, comparison with previous outbreaks. [http://www.who.int/csr/don/2004\\_03\\_02/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2004_03_02/en/index.html) – Accessed 31 Octobre 2005.
215. WHO 2004/08/20. Avian influenza: H5N1 detected in pigs in China. [http://www.who.int/csr/don/2004\\_08\\_20/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2004_08_20/en/index.html) – Accessed 30 October 2005.
216. WHO 2004/10/29. Laboratory study of H5N1 viruses in domestic ducks: main findings. [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/labstudy\\_2004\\_10\\_29/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/labstudy_2004_10_29/en) – Accessed 30 October 2005.
217. WHO 2005/08/18. Geographical spread of H5N1 avian influenza in birds - update 28. [http://www.who.int/csr/don/2005\\_08\\_18/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/2005_08_18/en/index.html) – Accessed 31 October 2005.
218. WHO 2005. Avian Influenza: Assessing the pandemic threat. <http://www.who.int/csr/disease/influenza/H5N1-9reduit.pdf>
219. WHO 2006. Cumulative Number of Confirmed Human Cases of Avian Influenza A/(H5N1) Reported to WHO. [http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/en)
220. WHO Global Influenza Program Surveillance Network. Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 1515-21. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=16318689> – Full text at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol11no10/05-0644.htm>
221. Widjaja L, Krauss SL, Webby RJ, Xie T, Webster RG. Matrix gene of influenza A viruses isolated from wild aquatic birds: ecology and emergence of influenza A viruses. *J Virol* 2004; 78: 8771-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15280485> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/78/16/8771>
222. Witt CJ, Malone JL. A veterinarian's experience of the spring 2004 avian influenza outbreak in Laos. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 143-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15766647>
223. Wood GW, McCauley JW, Bashiruddin JB, Alexander DJ. Deduced amino acid sequences at the haemagglutinin cleavage site of avian influenza A viruses of H5 and H7 subtypes. *Arch Virol* 1993; 130: 209-17. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8503786>
224. Woolcock PR, McFarland MD, Lai S, Chin RP. Enhanced recovery of avian influenza virus isolates by a combination of chicken embryo inoculation methods. *Avian Dis* 2001; 45: 1030-5. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11785874>
225. Xu X, Subbarao, Cox NJ, Guo Y. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/Goose/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology* 1999; 261: 15-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=10484749>
226. Xu C, Fan W, Wei R, Zhao H (2004). Isolation and identification of swine influenza recombinant A/Swine/Shandong/1/2003 (H9N2) virus. *Microbes Infect* 6: 919-25. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=15310468>
227. Yuen KY, Chan PK, Peiris M, et al. Clinical features and rapid viral diagnosis of human disease associated with avian influenza A H5N1 virus. *Lancet* 1998; 351: 467-71. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9482437>
228. Zhou N, He S, Zhang T, Zou W, Shu L, Sharp GB, Webster RG. Influenza infection in humans and pigs in southeastern China. *Arch Virol.* 1996;141(3-4):649-61. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=8645101>
229. Zhou EM, Chan M, Heckert RA, Riva J, Cantin MF. Evaluation of a competitive ELISA for detection of antibodies against avian influenza virus nucleoprotein. *Avian Dis* 1998; 42: 517-22. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=9777152>

## 44 FLU BURUNG

230. Zitzow LA, Rowe T, Morken T, Shieh WJ, Zaki S, Katz JM. Pathogenesis of avian influenza A (H5N1) viruses in ferrets. *J Virol.* 2002; 76: 4420-9. Abstract: <http://amedeo.com/lit.php?id=11932409> – Full text at <http://jvi.asm.org/cgi/content/full/76/9/4420>

