

PENGAJIAN MUTU VAKSIN AVIAN INFLUENZA (AI) YANG BEREDAR DI 20 PROVINSI DI INDONESIA TAHUN 2006

Yupiana Y., Soedijar I.L., Emilia., Hidayanto N.K., Astuti S.M.,Suryati Y.

ABSTRAK

Pengkajian mutu vaksin Avian Influenza (AI) pada 20 provinsi di Indonesia telah dilakukan di BBPMSOH pada tahun 2006. Sampel vaksin AI yang berhasil diambil dari Dinas Peternakan tingkat kabupaten/kota sebanyak 37 sampel dari 18 provinsi. Vaksin AI diuji dengan menggunakan uji inaktivasi, uji keamanan, uji potensi dan uji identitas. Seluruh sampel vaksin AI yang diuji di unit uji virologi juga dilakukan uji umum di unit uji bakteriologi berupa uji sterilitas dan uji kemurnian. Pada pengkajian ini diperoleh hasil bahwa dari 37 sampel vaksin AI yang diuji, 16 sampel vaksin (43.24%) dikategorikan TMS (Tidak Memenuhi Syarat) karena satu uji atau lebih tidak memenuhi persyaratan minimum.

Hasil pengkajian ini menunjukkan bahwa kemungkinan sistem transportasi dan penyimpanan vaksin dari produsen/importir sampai dengan Dinas Peternakan tingkat kabupaten/kota belum memenuhi persyaratan minimal.

ABSTRACT

A study of Avian Influenza (AI) Vaccines quality from 20 provinces in Indonesia was conducted by BBPMSOH in 2006. AI vaccines samples collected from district livestock services (18 provinces) were 37 samples. AI vaccines examined by performing inactivation, safety, potency and identity test. Besides in virology assay unit, the samples also tested in Bacteriology assay unit by performing sterility and purity test. The result showed that from 37 samples tested, 16 samples (43.24%) were not satisfied.

Based on the study, we can conclude that transportation and storage system of the vaccine from produsen/importir to customer did not meet minimum requirement.

PENDAHULUAN

Avian Influenza (AI) adalah penyakit hewan menular yang menyerang sistim pernapasan unggas, disebabkan oleh virus AI tipe A famili Orthomyxoviridae dengan galur bervariasi antigen 16 haemagglutinin (HA) dan 9 neuraminidase (NA) (Saif, 2003). Penyakit AI termasuk daftar list A dalam Office International Des Epizooties (OIE) dan merupakan penyakit eksotik yang sebelumnya tidak pernah ditemukan di Indonesia.

Pada bulan Agustus 2003, terjadi kasus AI pertama kali di Indonesia yang ditemukan di Pekalongan dan Banyumas dan kemudian melanda peternakan pembibitan ayam petelur dan pedaging di beberapa daerah provinsi lain seperti Jawa Timur, Jawa Barat, Banten, Yogyakarta, Bali, Sumatera Utara, Lampung, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur dan Kalimantan Tengah. Sampai akhir Desember 2006, wilayah yang terinfeksi sudah menjadi 33 Provinsi (Widya Asmara, 2007).

Sementara itu Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPM SOH) sesuai dengan SK Mentan No. 628/Kpts/OT.140/12/2003 mempunyai tugas dan fungsi pokok antara lain melakukan pengujian, sertifikasi, pengkajian serta pemantauan obat hewan (meliputi vaksin, antigen, premix dan farmasetik) yang beredar di masyarakat, di samping tugas penting lainnya, meliputi kerjasama dengan institusi lain, pengembangan teknik uji, pengamanan hasil pengujian dan pelayanan teknik pengujian.

Dengan mempertimbangkan peredaran penggunaan vaksin yang dilakukan oleh pemerintah maupun swasta cukup besar, sementara kasus AI di beberapa daerah pada unggas masih terjadi, maka pemantauan mutu vaksin akan membantu untuk memudahkan pengamatan epidemiologi penyakit AI khususnya dalam hal pemetaan penggunaan vaksin di setiap wilayah. Dengan demikian maka hasil sampling sementara oleh BBPM SOH terhadap adanya indikasi rendahnya mutu serta adanya vaksin ilegal di beberapa lokasi perlu segera ditindak lanjuti lebih luas. Dari pemantauan diharapkan masalah mutu dan jenis vaksin yang beredar dapat diketahui, sehingga kebijakan terhadap program vaksinasi khususnya dalam *exit strategy* atau program DIVA dapat memberikan jawaban terhadap satu masalah yang berkembang mengenai kebijakan vaksinasi sebagai salah satu strategi penanggulangan penyakit avian influenza.

MATERI DAN METODA

Vaksin AI yang diuji diambil dari 20 provinsi dan setiap provinsi masing-masing 2 kabupaten. Vaksin diambil di dinas peternakan provinsi dan atau kabupaten/kota yang menyediakan vaksin AI. Setiap kabupaten diambil 3 botol vaksin kemasan 250 ml atau 500 ml dengan waktu kadaluarsa dan nomor batch yang sama.

Sampel vaksin AI dibawa dalam keadaan dingin dengan menggunakan *ice box*. Sampel-sampel vaksin tersebut didistribusikan ke laboratorium bakteriologi dan virologi masing-masing 1 botol vaksin (bakteriologi) dan 2 botol vaksin (virologi). Pengujian yang bersifat umum seperti uji sterilitas dan kemurnian dilakukan di lab. bakteriologi dan pengujian yang bersifat khusus yang meliputi uji inaktivasi, uji keamanan, uji potensi dan uji identitas dilakukan di laboratorium virologi.

1. Metode di Lapangan

Pengambilan sampel vaksin AI yang beredar di Indonesia secara acak dari 33 provinsi yang saat ini dinyatakan terinfeksi virus AI yaitu dipilih 20 provinsi yaitu (1) NAD, (2) Sumatera Utara, (3) Sumatera Barat, (4) Riau, (5) Jambi, (6) Sumatera Selatan, (7) Lampung, (8) Kep. Bangka Belitung, (9) Kep. Riau, (10) Kalimantan Barat, (11) Kalimantan Selatan, (12) Kalimantan Timur, (13) Kalimantan Tengah, (14) Sulawesi Selatan, (15) Sulawesi Tenggara, (16) Sulawesi Barat, (17) NTB, (18) NTT, (19) Bali dan (20) Irian Jaya Barat.

Setiap provinsi diwakili oleh 2 Kabupaten. Dari setiap kabupaten diambil 3 botol vaksin dengan nomor Batch dan waktu kadaluarsa (*expire date*) yang sama.

2. Metode di Laboratorium

Uji Inaktivasi (OIE)

Uji inaktivasi dilakukan dengan menggunakan 10 butir telur SPF umur 10 hari. Sepuluh butir telur SPF disuntikkan dengan 0.2 ml vaksin AI ke dalam ruang allantoik. Telur diinkubasikan dalam inkubator 37 °C dan diamati selama 7 hari. Dilakukan pengujian HA (Haemagglutinin) terhadap cairan allantois dari telur yang mati atau hidup sampai hari ketujuh.

Dilakukan pasase dengan cara yang sama seperti di atas sebanyak sedikitnya 3 kali pasase.

Penilaian : Cairan allantois harus menunjukkan negatif hemagglutinasasi terhadap sel darah merah ayam (RBC 1% dan 3%)

Uji Keamanan

Sepuluh ekor ayam SPF divaksin dengan vaksin AI sebanyak 2 dosis/ekor secara IM, pada bagian paha sebelah kanan. Dilakukan pengamatan terhadap gejala klinis yang spesifik terhadap penyakit AI setiap hari selama 14 hari. Seluruh ayam perlakuan harus sehat sampai hari terakhir pengamatan tanpa menunjukkan gejala klinis penyakit AI.

Uji Potensi

Sepuluh ekor ayam SPF divaksin dengan vaksin AI sebanyak 1 dosis/ekor secara IM, pada bagian paha sebelah kanan. Dilakukan pengamatan terhadap gejala klinis yang spesifik terhadap penyakit AI setiap hari selama 4 minggu. Kemudian serum diambil untuk diketahui titer antibodi yang terbentuk 4 minggu paska vaksinasi. Pengujian titer antibodi dilakukan dengan metode HI.

Uji Potensi harus sehat dalam kelompok vaksinasi > 90 %, dengan nilai GMT > 16 X.

Uji Identitas

Uji identitas dilakukan dengan menggunakan metode PCR (Polymerase Chain Reaction).

Uji ini bertujuan untuk mengetahui identitas subtype dari vaksin-vaksin AI yang diuji. Dalam pengujian ini digunakan primer terhadap subtype H5 dan N1 untuk *real time PCR* dan primer terhadap subtype H5N1 untuk *conventional PCR*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 20 propinsi yang dipilih untuk dilakukan pengambilan sampel vaksin AI berhasil diambil dari 18 propinsi. Sampel vaksin AI tidak tersedia pada 2 propinsi yaitu NTT dan Irian Jaya Barat. Terdapat 3 subtype dari 37 sampel vaksin AI yaitu H5N1, H5N2 dan H5N9.

Dari hasil pengujian yang dilakukan menunjukkan hasil sebagai berikut :

1. Uji safety :

Dari 37 sampel vaksin Avian Influenza (AI) yang disampling dari 18 provinsi, ditemukan 1 sampel vaksin (2.7%) yang tidak memenuhi syarat minimal untuk uji kemananan. Sementara 36 sampel vaksin (97.3%) memenuhi syarat minimal untuk uji keamanan dimana semua ayam perlakuan uji tidak menunjukkan adanya gejala *symptomatis* AI.

2. Uji Potensi :

Dari 37 sampel vaksin AI yang diperoleh dari 18 provinsi, ternyata masih ditemukan 3 dari 37 sampel (8.11%), yang memberikan hasil titer antibodi di bawah persyaratan minimal. Hal ini dimungkinkan karena rantai penyimpanan yang kurang diperhatikan. Sedangkan 34 sampel vaksin (91.89%) memberikan hasil yang memuaskan dengan $GMT > 16X$ (FOHI, 2004).

Dapat disimpulkan bahwa untuk uji potensi, sampel yang diperoleh dari 18 provinsi yang disampling memberikan hasil yang memuaskan karena 91.89% memenuhi persyaratan minimal dengan memberikan titer antibody yang memuaskan yaitu $GMT > 16X$.

3. Uji Inaktivasi :

Dari 37 sampel vaksin AI, ditemukan 7 sampel (18.92%) yang diuji masih belum memberikan kesempurnaan dalam inaktivasi. Hal ini cukup mengkhawatirkan mengingat jenis sediaan vaksin yang seharusnya dalam bentuk inaktif sempurna masih menunjukkan adanya pertumbuhan virus setelah melalui tiga kali pasase pada telur berembrio umur 9-10 hari (OIE, 2004).

4. Uji Identitas :

Uji identitas dilakukan dengan metode Realtime PCR. Primer yang digunakan pada uji ini adalah primer H5 dan primer N1. Untuk konfirmasi dilakukan metode *conventional* PCR dengan primer N1, sehingga untuk vaksin dengan strain H5N2 dan H5N9 hanya dapat dikonfirmasi antigen H5 saja.

Berdasarkan pengujian yang dilakukan diperoleh hasil sebagai berikut yaitu :

- Untuk vaksin dengan subtype H5N1, dari 29 sampel vaksin AI yang diuji, 10 sampel (34.5%) tidak menunjukkan kecocokan antigen (antigen Haemagglutinin dan Neuraminidase) dengan antigen yang terkandung dalam sampel vaksin AI.
- Untuk vaksin dengan strain H5N2, dari 7 sampel vaksin AI yang diuji, 1 vaksin (14.29%) tidak menunjukkan kecocokan antigen H (Haemagglutinin) dan N (Neuraminidase) dengan antigen H dan N yang terkandung dalam sampel vaksin AI. Sedangkan 6 sampel (85.71%) menunjukkan kecocokan antigen H Namun untuk antigen N2 tidak dapat dideteksi karena menggunakan primer H5N1.

- Untuk vaksin dengan strain H5N9, 1 sampel vaksin AI menunjukkan kecocokan identitas antigen H dengan antigen H yang terkandung dalam sampel vaksin AI. Sedangkan untuk N9 tidak dapat dideteksi karena primer yang digunakan adalah H5 dan N1.

Dari 37 sampel vaksin AI, 16 sampel (43.24%) dikategorikan TMS (Tidak Memenuhi Syarat) karena satu uji atau lebih tidak memenuhi persyaratan minimum.

HASIL PENGKAJIAN MUTU VAKSIN AVIAN INFLUENZA (AI) YANG BEREDAR DI INDONESIA TAHUN 2006

No.	Provinsi	Kabupaten	No. Uji	Lot No. Exp. date	P1	P2	P3	Safety	Potency (III-GMT)	PCR	Hasil	Kel.
1	NAD	Aceh Besar	PAI 0012006	216540HA/0507	Neg.	Neg.	Pos.	100%	24,25	+HS-NI	TMS	H5N1
		Pidie	PAI 0022006	F38185/150507	Neg.	Neg.	Neg.	100%	22,63	+HS-NI	MS	H5N9
2	RIAU	Kota Pekanbaru	PAI 0032006	60BIO/0807	Neg.	Neg.	Pos.	100%	18,38	+HS-NI	TMS	H5N1
		Kota Pekanbaru	PAI 0042006	2165401A/0407	Neg.	Neg.	Neg.	100%	32	+HS-NI	TMS	H5N1
3	SUMUT	Kodya Medan	PAI 0052006	2006016/011207	Neg.	Neg.	Neg.	100%	97	+HS-NI	MS	H5N2
		Binjai	PAI 0062006	2006016/011207	Neg.	Neg.	Neg.	100%	29,86	+HS-NI	MS	H5N2
4	SUMBAR	Tanah Datar	PAI 0072006	216540NA/0507	Neg.	Neg.	Neg.	100%	45,23	-HS+NI	MS	H5N1
		50 Kota	PAI 0082006	216540HA/0507	Neg.	Neg.	Neg.	90%	97	+HS+NI	TMS	H5N1
5	JAMBI	Kota Jambi	PAI 0092006	216540ND/0607	Neg.	Neg.	Pos.	100%	90,5	+HS+NI	TMS	H5N1
		Muara Jambi	PAI 0102006	216640ND/0607	Neg.	Neg.	Pos.	100%	19,7	+HS-NI	TMS	H5N1
6	PALEMBANG	Kota Palembang	PAI 0112006	216540NI/0608	Neg.	Neg.	Pos.	100%	18,4	+HS-NI	TMS	H5N1
7	LAMPUNG	Kota Lampung	PAI 0122006	2006021/081207	Neg.	Neg.	Neg.	100%	68,6	+HS-NI	MS	H5N2
		Kota Lampung	PAI 0132006	2006016/011207	Neg.	Neg.	Neg.	100%	36,8	+HS-NI	MS	H5N2
8	BABEL	Kota Babel	PAI 0142006	216540NA/0507	Neg.	Neg.	Neg.	100%	12,9	+HS+NI	TMS	H5N1
		Bangka	PAI 0152006	64698/0108	Neg.	Neg.	Neg.	100%	12,1	+HS-NI	TMS	H5N1
9	KEPRIAU	Batam	PAI 0162006	21674PTP/0907	Neg.	Neg.	Pos.	100%	24,3	+HS+NI	TMS	H5N1
		Batam	PAI 0172006	216540IT/0507	Neg.	Neg.	Neg.	100%	36,8	+HS+NI	MS	H5N1
		Batam	PAI 0182006	510090B/041107	Neg.	Neg.	Neg.	100%	21,11	+HS+NI	TMS	H5N2
10	KALBAR	Kota Pontianak	PAI 0192006	216540NT/0507	Neg.	Neg.	Neg.	100%	18,4	+HS-NI	MS	H5N1
		Kab. Pontianak	PAI 0202006	216540FA/0407	Neg.	Neg.	Pos.	100%	8	+HS+NI	TMS	H5N1

11	KALSEL	Banjarbaru	PAI 0212006	21664POD/0407	Neg.	Neg.	Pos.	100%	18.4	+H5+N1	MS	HSN1
		Pelaihari	PAI 0222006	216540/0607	Neg.	Neg.	Neg.	100%	21.11	+H5-N1	MS	HSN1
12	KALTIM	Samarinda	PAI 0232006	21674PPV/0607	Neg.	Neg.	Pos.	100%	32	+H5-N1	MS	HSN1
		Balikpapan	PAI 0242006	216640DI/0407	Neg.	Neg.	Neg.	100%	39.4	+H5-N1	MS	HSN1
13	SULSEL	Maros	PAI 0252006	63E59/1107	Neg.	Neg.	Neg.	100%	22.63	+H5-N1	TMS	HSN1
		Goa	PAI 0262006	63E59/1107	Neg.	Neg.	Neg.	100%	90.5	+H5-N1	TMS	HSN1
14	SULTRA	Kendari	PAI 0272006	216540HC/0607	Neg.	Neg.	Neg.	100%	36.76	+H5+N1	MS	HSN1
		Kab. Muna	PAI 0282006	63858/1107	Neg.	Neg.	Neg.	100%	34.3	+H5-N1	TMS	HSN1
15	KALTENG	Waringin Timur	PAI 0292006	21664OND/0607	Neg.	Neg.	Neg.	100%	19.7	+H5+N1	MS	HSN1
		Waringin Timur	PAI 0302006	216540NI/0507	Neg.	Neg.	Neg.	100%	26	+H5+N1	MS	HSN1
		Palangkaraya	PAI 0312006	21614PTR/1007	Neg.	Neg.	Neg.	100%	26	+H5+N1	MS	HSN1
16	SULBAR	Manuju	PAI 0322006	216241OD/0507	Neg.	Neg.	Neg.	100%	16	+H5+N1	MS	HSN1
		Majene	PAI 0332006	64E64/1107	Neg.	Neg.	Neg.	100%	21.11	+H5+N1	TMS	HSN1
17	NTB	Mataram	PAI 0342006	216540ND/0607	Neg.	Neg.	Neg.	100%	16	+H5+N1	MS	HSN1
		Lombok Barat	PAI 0352006	21665OPC/0807	Neg.	Neg.	Neg.	100%	16	+H5+N1	MS	HSN1
18	BALI	Bangli	PAI 0362006	2006016/011207	Neg.	Neg.	Neg.	100%	256	+H5-N1	MS	HSN2
		Gianyar	PAI 0372006	2006016/081207	Neg.	Neg.	Neg.	100%	194	+H5-N1	MS	HSN2

Keterangan :

Neg. : Negatif aglutinasi darah (inaktivasi sempurna)

Pos. : Positif aglutinasi darah (inaktivasi sempurna)

PI-2-3 : Pasase 1-2-3

MS : Memenuhi syarat

TMS : Tidak memenuhi syarat

SU : Sedang uji

HI : Hambatan Aglutinasi

PCR : Polymerase Chain Reaction

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan :

1. Dari 37 sampel vaksin Avian Influenza (AI) yang diperoleh dari pengkajian AI tahun 2006 menunjukkan 16 sampel (43.24%) tidak memenuhi syarat karena satu uji atau lebih tidak memenuhi persyaratan minimum.
2. Pada uji keamanan, ditemukan 1 sampel vaksin (2.7%) yang tidak memenuhi syarat. Sementara 36 sampel vaksin (97.3%) memenuhi syarat.
3. Pada uji potensi 3 dari 37 sampel (8.11%) memberikan hasil titer antibodi di bawah persyaratan minimal. 34 sampel vaksin (91.89%) memberikan hasil yang memuaskan.
4. Pada uji Inaktivasi ditemukan 7 sampel (18.92%) yang diuji masih belum memberikan kesempurnaan dalam inaktivasi.
5. Pada uji Identitas menunjukkan hasil sebagai berikut:
 - Vaksin dengan subtype H5N1, dari 29 sampel vaksin AI yang diuji, 10 sampel (34.5%) tidak menunjukkan kecocokan antigen (antigen Haemagglutinin dan Neuraminidase) dengan antigen yang terkandung dalam sampel vaksin AI.
 - Untuk vaksin dengan strain H5N2, dari 7 sampel vaksin AI yang diuji, 1 vaksin (14.29%) tidak menunjukkan kecocokan antigen H (Haemagglutinin) dan N (Neuraminidase) dengan antigen H dan N yang terkandung dalam sampel vaksin AI. Sedangkan 6 sampel (85.71%) menunjukkan kecocokan antigen H Namun untuk antigen N2 tidak dapat dideteksi karena menggunakan primer H5N1.
 - Untuk vaksin dengan strain H5N9, 1 sampel vaksin AI menunjukkan kecocokan identitas antigen H dengan antigen H yang terkandung dalam sampel vaksin AI. Sedangkan untuk N9 tidak dapat dideteksi karena primer yang digunakan adalah H5 dan N1.
6. Penanganan rantai dingin (*cold chain handling*) vaksin mulai dari produsen hingga digunakan di masyarakat sangat mempengaruhi potensi vaksin tersebut.

Saran :

1. Pengujian terhadap mutu vaksin AI sebaiknya dilakukan pada tiap batch produksi.
2. Pengujian sewaktu-waktu terhadap mutu vaksin AI sebaiknya dilakukan setiap bulan sekali.
3. Peraturan sistem obat hewan di Indonesia agar dievaluasi kembali.
4. Pengkajian mutu vaksin AI di Indonesia agar dilanjutkan untuk memperoleh gambaran yang lebih lengkap terhadap mutu vaksin AI yang beredar.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada pelaksanaan pengkajian mutu vaksin Avian Influenza ini kami mengucapkan terima kasih kepada Dinas Pertanian dan Peternakan Tingkat Provinsi dan Kabupaten dari NAD, Sumatera Utara, Sumatera Barat, Riau, Jambi, Sumatera Selatan, Lampung, Kep. Bangka Belitung, Kep. Riau, Kalimantan Barat, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah, Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Sulawesi Barat, NTB, NTT, Bali dan Irian Jaya Barat yang telah membantu kami dalam pengambilan sampel vaksin di lapangan.

Terima kasih juga kami sampaikan pada tim medik dan paramedik unit uji Virologi dan Bakteriologi yang telah membantu pengujian mutu vaksin AI di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2004. OIE Manual of Standar for Diagnostic Test and Vaccines 4th edition , OIE Paris, France.
- Anonymous. 2004. Farmakope Obat Hewan Indonesia (Biologik). Jilid I. Edisi 2. Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan. Departemen Pertanian. Jakarta.
- Anonymous. 2004a. Keputusan Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan Tentang Pedoman Pencegahan, Pengendalian dan Pemberantasan Penyakit Hewan Menular Avian Influenza pada Unggas, Direktorat Jenderal Bina Produksi Peternakan, Jakarta.
- Anonymous. 2005a. Avian Influenza Infection in Humans.
<http://www.cdc.gov/flu/avian/gen/info/avian-flu-humans.htm>.
- Anonymous. 2005b. Influenza viruses, types, subtypes and strains.
<http://www.cdc.gov/flu/avian/gen/info/avian-flu-humans.htm>
- Capua I, Mutinelli F, Avian influenza. PAPI EDITORE. Edizione Tecnico Scientifiche
- Chen, J., K.H. Lee, D.A. Steinhauer, D.J. Stevens, J.J. Skehel, D.C. Wiley. 1998. Structure of the Hemagglutinin Precursor Cleavage Site, a Determinant of Influenza Pathogenicity and the Origin of the Labile Conformation. Cell, 95: 409-417.

- Hoffmann, E., G. Neumann, Y. Kawaoka, G. Hobom, R.G. Webster. 2000. A DNA Transfection System for Generation of Influenza A Virus from Eight Plasmids. *Natl. Acad.Sci. USA*, 97(11):6108-61013.
- Saif Y.M. 2003. *Disease of Poultry II* edition. Iowa State Press. United States of America.
- Senne, D.A., B. Panigrahy, Y. Kawaoka, J.E. Pearson, J. Suss, M. Lipkind, H. Kida, R.G. Webster. 1996. 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 Potencial. *Avian Disease*. 40(2): 425-437.
- Soeharsono. 2003. Mengendalikan Influenza Unggas. *Kompas*, Senin, 22 Desember 2003, Hal. 10
- Swayne E. D. , D.A. Halvarson. 2003. *Influenza Disease of Poultry 11th*. 2121 Hill Avenue, Ames, Iowa 50014, America