

Zasady zwalczania zakażeń wirusem BHV1 w Europie

JERZY ROLA, JAN F. ŻMUDZIŃSKI

Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Rola J., Żmudziński J. F.

Rules of eradication of BHV1 infections in Europe

Summary

Bovine herpesvirus type 1 (BHV1), also called IBR/IPV virus, is an important pathogen causing serious economic losses in cattle stock all over the world. Infectious bovine rhinotracheitis (IBR), infectious pustular vulvovaginitis (IPV) and infectious pustular balanoposthitis (IBP) are the clinical syndromes of BHV1 infection. The virus can also cause miscarriage and reproduction disorders. The latency develops as a result of the primary infection. Infected animals become lifelong carriers and potential spreaders of the virus. Elimination of all seropositive animals is the only effective method of eradication of BHV1 infection. But this method is expensive and only rich countries with a low prevalence of BHV1 can afford it. For economical reasons this method is not used in countries with a high prevalence of BHV1 infection. The aim of this paper is to present eradication programmes of BHV1 in some European countries.

Keywords: BHV1, eradication, programme.

Herpeswirus bydłocy typ 1 (BHV1), zwany potocznie wirusem IBR/IPV, należy do rodziny *Herpesviridae*, podrodziny *Alphaherpesvirinae* (4, 10). Wirus ten jest czynnikiem etiologicznym zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy (IBR) oraz otrętu (IPV) bydła. Ponadto BHV1 może powodować zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, zapalenie spojówek, zapalenie wymienia, poronienia oraz zakażenia nowo narodzonych cieląt o złośliwym przebiegu (5).

W rozprzestrzenianiu BHV1 istotną rolę odgrywa zdolność wirusa do powodowania zakażenia latentnego. Zakażenie to lokalizuje się głównie w zwojach nerwowych. Zakażone osobniki stają się nosicielami wirusa, a nosicielstwo utrzymuje się przez całe życie zwierzęcia. Pod wpływem czynników stresowych dochodzi do reaktywacji zakażenia latentnego, a następnie do siewstwa wirusa. W efekcie reaktywowany wirus zakaża nowe, wrażliwe na zakażenie zwierzęta. Problem zakażeń latentnych jest szczególnie ważny u buhajów, gdyż zakażone buhaje wydalają wirus z nasieniem. Użycie nasienia zanieczyszczonego wirusem BHV1 do unasieniania prowadzi do przeniesienia zakażenia do pogłowia krów i to z reguły na dużą skalę. Chcąc wyeliminować tę drogę szerzenia się zakażenia do unasieniania powinno być używane wyłącznie nasienie wolne od wirusa BHV1. W Polsce, od 1988 r., buhaje w stacjach hodowli i unasieniania zwierząt są wolne od zakażenia wirusem BHV1. Wymogi w za-

kresie zdrowotności buhajów w stacjach unasieniania oraz obrotu nasieniem reguluje instrukcja Ministerstwa Rolnictwa, Leśnictwa i Gospodarki Żywnościowej Nr 2/87 z dnia 3 kwietnia 1987 r. Zgodnie z tą instrukcją dozwolony jest obrót nasieniem pochodzącym wyłącznie od buhajów wolnych od zakażenia wirusem BHV1. W krajach Unii Europejskiej wymogi stawiane przy obrocie nasieniem buhajów reguluje dyrektywa Rady Nr 88/407. Zgodnie z tą dyrektywą dopuszczony jest obrót nasieniem, które pochodzi nie tylko od buhajów wolnych od zakażenia BHV1, ale także od buhajów, które w momencie wejścia do stacji były serologicznie negatywne, a następnie poddane były szczepieniom przeciwko BHV1. Użycie nasienia buhajów serologicznie dodatnich, których status zdrowotny w momencie wejścia do stacji był nieznan, jest możliwe tylko wtedy, gdy posiada ono negatywny wynik testu izolacji wirusa BHV1.

Wspomniana różnorodność form klinicznych zakażenia wirusem BHV1 jest przyczyną poważnych strat ekonomicznych w hodowli bydła na całym świecie. W Holandii roczne straty powodowane przez wirus BHV1 szacuje się na około 53 miliony guldenów. Do strat bezpośrednich, powodowanych przez tę chorobę, należy doliczyć straty powstałe wskutek ograniczeń w handlu bydłem, zarodkami oraz nasieniem buhajów. Chcąc ograniczyć te straty, wiele krajów rozpoczęło realizację programów zwalczania zakażeń wirusem

BHV1. W Szwajcarii i Danii programy te zakończyły się pełnym sukcesem i obecnie pogłowie bydła w tych krajach wolne jest od BHV1 (1, 2). Państwa te, obawiając się ponownego wprowadzenia wirusa BHV1 do pogłowie bydła, wywierają nacisk na kraje sąsiednie aby przystąpiły do zwalczania IBR u siebie. Presja ze strony tych państw oraz powstanie jednego wspólnego rynku w obrębie Unii Europejskiej wymusiły takie działania (8, 9). Opierając się na dostępnych informacjach należy sądzić, że w niedalekiej przyszłości status kraju wolnego od BHV1 będzie wymagany od wszystkich członków Unii i dlatego pozostałe kraje przystępują do realizacji własnych programów zwalczania. Od pewnego czasu Polska prowadzi rozmowy o przystąpieniu do Unii Europejskiej i nie wykluczone, że w przyszłości, chcąc uczestniczyć w międzynarodowym handlu bydłem, będzie musiała rozwiązać ten problem u siebie. Dlatego celem tego artykułu jest przedstawienie sposobów zwalczania zakażeń wirusem BHV1 w wybranych państwach europejskich.

Do grupy państw, które odniosły sukces w zwalczaniu zakażeń BHV1 należą oprócz Szwajcarii i Danii, także Finlandia, Austria i Szwecja. Państwa te zastosowały radykalną metodę zwalczania, która polegała na eliminacji wszystkich zwierząt serologicznie dodatnich. Należy jednak zaznaczyć, że kraje te posiadały dobrą sytuację wyjściową, gdyż nigdy nie stosowały szczepień przeciwko BHV1, a stopień rozprzestrzenienia zakażenia w momencie startu programu był niski. Programy te oparte były na założeniu, że zwierzęta serologicznie dodatnie są nosicielami wirusa i jego potencjalnymi siewcami. Chodziło więc o wykrycie zwierząt, które posiadały przeciwciała dla BHV1, a następnie o ich eliminację z dalszej hodowli. W Szwajcarii program zwalczania zakażeń BHV1 składał się z 4 etapów. W pierwszym etapie oceniono rozprzestrzenienie wirusa w populacji bydła w całym kraju. Aby zapobiec transmisji zakażenia wprowadzono obostrzenia w handlu bydłem. Fermi, w których stwierdzono IBR lub były podejrzane o zakażenie miały zakaz handlu bydłem. Zakaz ten znoszono, gdy wyniki dwóch kolejnych badań wykonanych w ciągu 6 miesięcy były negatywne. W drugim etapie uwolniono od BHV1 stada zarodowe. Wszystkie zwierzęta, u których stwierdzono obecność przeciwciał dla BHV1 kierowano do uboju. Etap trzeci obejmował zwalczanie zakażenia w fermach bydła opasowego. Jak wykazały badania szwajcarskie, zwierzęta w tych fermach stanowiły później jedyny rezerwuuar wirusa. W ostatnim etapie opracowano program monitoringu oraz podjęto działania prawne, które ograniczałyby możliwość ponownego wprowadzenia wirusa IBR/IPV do Szwajcarii.

Powodzenie programów realizowanych w tych państwach zależało od posiadania testu serologicznego, który umożliwiałby identyfikację zakażonych zwierząt, gdyż przyjmuje się, że w warunkach zakażeń natural-

nych, wszystkie zwierzęta reagujące serologicznie dodatnio są latentnie zakażone. Test ten powinien być tani i powinien umożliwiać zbadanie dużej liczby próbek w krótkim czasie. W Danii do badań serologicznych opracowano test ELISA w odmianach blocking i indirect. Każda próbka krwi badana była oboma testami. Jak wykazały badania test blocking ELISA był dwukrotnie czulszy od 24 godzinnego testu seroneutralizacji, a test indirect ELISA był nawet 4-8 razy czulszy. Test ELISA stosowano również w Szwajcarii.

W Niemczech program kontroli IBR stanowił początkowo połączenie metody radykalnej i szczepień szczepionkami konwencjonalnymi (atenuowane, inaktywowane). Program ten zapoczątkowano w Bawarii w 1986 r. i był to program dobrowolny. Farmerzy, którzy przystępowali do programu, określali najpierw status zdrowotny stada w stosunku do BHV1. Status ten ustalano badając testem ELISA indywidualne próbki krwi lub zbiorcze próbki mleka. Stado uznawano za wolne od IBR jeżeli dwukrotne badanie w odstępie 3-4 miesięcy zbiorczych próbek mleka dało wynik negatywny. Stado takie było później regularnie kontrolowane co 5-7 miesięcy. Jeżeli wynik badania zbiorczej próbki mleka był pozytywny stado uznawano za IBR dodatnie. Następnie wszystkie zwierzęta w stadzie, starsze niż 9 miesięcy, badano serologicznie. Dalsze postępowanie zależało od liczby zwierząt w stadzie reagujących dodatnio i pieniędzy jakie mógł wydać na ten cel hodowca. Jeżeli liczba dodatnich zwierząt była mała zwierzęta te natychmiast kierowano do uboju. Pozostałe zwierzęta, po upływie co najmniej 4 tyg., badano serologicznie i jeżeli były one negatywne stado uznawano za wolne od IBR. Później zwierzęta kontrolowano co 5-7 miesięcy badając próbki mleka zbiorczego. W stadach o średnim i wysokim odsetku zwierząt dodatnich stosowano szczepienie i eliminację zwierząt. Wszystkie zwierzęta dodatnie szczepiono dwukrotnie szczepionką inaktywowaną, a następnie doszczepiano je co 6 miesięcy aż do momentu uboju. Zwierzęta negatywne nie były szczepione. Kontrolowano je serologicznie i jeżeli któreś z nich uległo zakażeniu było włączane do programu szczepień. Jednakże, głównym założeniem była zasada możliwie jak najwcześniejszej eliminacji ze stada zwierząt serologicznie dodatnich. Zależało to jedynie od możliwości finansowych i planów hodowlanych farmera. Gdy wszystkie zwierzęta dodatnie wyeliminowano, pozostałe zwierzęta badano serologicznie i jeżeli wynik badania był negatywny to stado uznawano za wolne od IBR. Stado takie było później monitorowane serologicznie w kierunku zakażenia BHV1. Realizacja tego programu nie spowodowała jednak istotnego wzrostu liczby gospodarstw wolnych od IBR.

Główną przyczyną niskiej skuteczności programu była zasada dobrowolności przystępowania do niego oraz brak jednoznacznego poparcia programu ze stro-

ny organizacji hodowców bydła. Obecnie rząd federalny Niemiec wprowadza zmodyfikowany program będący połączeniem działań administracyjnych i szczepień z użyciem szczepionek znakowanych. Program ten określa szczegółowo kryteria jakim musi odpowiadać stado, aby zostało uznane za wolne od IBR. Ponadto program ustanawia zasady monitoringu stad wolnych od IBR, uzyskiwania zezwoleń na obrót bydłem oraz użycia szczepionek. W stadach bydła zarodowego mogą być używane jedynie szczepionki znakowane, zaś w stadach bydła rzeźnego można stosować szczepionki konwencjonalne (żywe atenuowane, inaktywowane). Wszystkie przypadki IBR muszą być zgłaszane, a stada w których wystąpił IBR podlegają rygorom administracyjnym.

We Francji stada uczestniczące w programie zwalczania IBR podzielone są na dwie kategorie, tj. stada wolne od IBR i stada „pod kontrolą” (6). Podziału stad dokonuje się na podstawie badań przeglądowych indywidualnych próbek krwi lub zbiorczych próbek mleka. Głównie ze względów finansowych preferowana jest ta druga forma badań. Jak wykazały badania francuskie, wykrywalność zakażenia oparta na zbiorczej próbce mleka była niższa od wykrywalności uzyskiwanej po badaniu indywidualnych próbek surowicy. Jednak zwiększenie częstotliwości badania próbek mleka prowadziło do zwiększenia wykrywalności zakażenia. Według autorów badań epidemiologiczne ryzyko uzyskiwania wyników fałszywie ujemnych było małe. Stada krów mlecznych uznawano za wolne od IBR jeżeli 4-krotne badanie zbiorczych próbek mleka w ciągu 6 miesięcy dało wynik negatywny. Z kolei stada bydła mięsnego były wolne od IBR, jeżeli wynik dwukrotnego badania zbiorczej próbki surowicy w okresie 3-15 miesięcy był negatywny. Następnie wszystkie zwierzęta z takich stad poddawane były kontroli serologicznej raz w roku celem wykluczenia ewentualnego zakażenia wirusem IBR/IPV. Stada te nie podlegają również szczepieniom przeciwko IBR. Bydło ze stad wolnych od IBR, przed wprowadzeniem do innego stada, wolnego od zakażenia tym wirusem, podlega kwarantannie, w trakcie której jest badane serologicznie. Dopiero negatywny wynik tego badania zezwala na wprowadzenie nowych zwierząt do stada.

Druga grupa gospodarstw biorąca udział w programie zwalczania określana jest jako grupa „pod kontrolą”. W grupie tej nadzór weterynaryjny może być prowadzony poprzez regularne badania serologiczne lub przez szczepienia zwierząt z użyciem szczepionek znakowanych. Przy nadzorze serologicznym regularnie badane są indywidualne próbki surowic wszystkich zwierząt, a wynik negatywny gwarantuje, że nie ma siewców wirusa w stadzie. Stada te nie podlegają również szczepieniom. Gdyby, pomimo opisanego postępowania, pojawił się wynik dodatni, zwie-

rzę reagujące dodatnio możliwie szybko usuwane jest ze stada. Drugi sposób postępowania zakłada możliwość stosowania w gospodarstwach z grupy „pod kontrolą” szczepień szczepionkami znakowanymi. Pozwala to różnicować, a następnie eliminować zwierzęta zakażone naturalnie od zwierząt szczepionych.

Belgia i Holandia należą do państw o wysokim współczynniku rozprzestrzenienia zakażeń wirusem IBR/IPV. Program zwalczania przyjęty przez rząd belgijski zakłada uwolnienie Belgii od IBR do 2011 r. (6). Na podstawie badań serologicznych dokonuje się podziału stad bydła na grupy oznaczone symbolami od I4 do I0. Symbole te oznaczają:

I4 – stada, w których zwierzęta są serologicznie negatywne w stosunku do wszystkich glikoprotein wirusa BHV1,

I3 – stada, w których zwierzęta są gE-negatywne ale pozytywne dla innych glikoprotein wirusa BHV1,

I2 – stada, w których maksymalnie 10% zwierząt jest gE-pozytywnych,

I1 – stada, w których więcej niż 10% zwierząt jest gE-pozytywnych,

I0 – stada, które nie spełniają wyżej wymienionych warunków.

W grupach I4, I3, I2 wszystkie zwierzęta są badane serologicznie co 6 miesięcy, natomiast zwierzęta z grupy I1 są szczepione szczepionkami znakowanymi. W stadach bydła zarodowego i mlecznego cielęta w wieku od 2 tyg. do 3 miesięcy są szczepione żywą szczepionką znakowaną. Pierwsza dawka szczepionki podawana jest drogą donosową, a dawka druga po 3-5 tyg. drogą domięśniową. Cielęta powyżej 3 miesięcy szczepi się żywą szczepionką znakowaną (obie dawki domięśniowo w odstępie 3-5 tyg.), lub inaktywowaną szczepionką znakowaną (obie dawki podskórnie w odstępie 3-5 tyg.). Następnie co 6 miesięcy podaje się podskórnie dawkę przypominającą szczepionki inaktywowanej. Bydło mięsne szczepi się donosowo żywą szczepionką znakowaną w momencie przybycia zwierząt na fermę. Program belgijski podzielony jest na 3 etapy. Etap pierwszy przewidziany do realizacji w latach 1997-1999 obejmuje stopniowy podział stad na grupy, dobrowolne szczepienia zwierząt, próbę terenową i ocenę rozprzestrzenienia wirusa. Ostatecznie długość tego okresu zależeć będzie od wyników próby terenowej, której celem jest ocena bezpieczeństwa i skuteczności programów szczepień z użyciem szczepionek znakowanych oraz terenowa ocena testów serologicznych umożliwiających różnicowanie zwierząt szczepionych od zakażonych naturalnie. W etapie drugim zaplanowano obowiązkowe szczepienia, oznaczenie stad serologicznie negatywnych jako I4, szczepienia lub ubój zwierząt gE-pozytywnych oraz ścisłą kontrolę obrotu zwierząt. Z kolei etap ostatni ma obejmować przegląd i klasyfikację stad po zakończeniu szczepień, obowiązkowy rejestr statusu zdrowotnego stada

w aspekcie występowania zakażeń wirusem IBR/IPV, nadzór weterynaryjny i higieniczny oraz ścisłą kontrolę nad przemieszczaniem zwierząt.

Program holenderski opracowany został przez Uniwersytet w Wageningen, a poprzedziły go badania i próby terenowe. W trakcie badań stwierdzono, że w stadzie nie szczepionym współczynnik transmisji zakażenia R wynosił 5,6. Oznacza to, że w stadzie takim jeden zakażony osobnik zakażał średnio 5,6 sąsiadujących z nim zwierząt. W stadach szczepionych szczepionkami znakowanymi współczynnik ten wynosił 2,6 w przypadku szczepionek zabitych oraz 1,5 w przypadku szczepionek żywych. Ustalono również, że zakażenie rozprzestrzeniło się głównie przez:

- zakup zwierząt będących w ostrej fazie choroby,
- zakup zwierząt gE-pozytywnych, u których doszło do reaktywacji zakażenia latentnego w trakcie transportu lub po przybyciu na fermę (stres),
- wprowadzenie wirusa do stada przez obsługę, sztuczne unasienianie,
- reaktywację zakażenia latentnego u zwierząt gE-pozytywnych przebywających w stadzie.

Na podstawie wyników tych doświadczeń opracowano całościowy program zwalczania IBR w Holandii. Program ten przewiduje obowiązkowe szczepienia wszystkich zwierząt powyżej 3 miesiąca życia żywą szczepionką znakowaną domięśniowo 2-krotnie w ciągu roku. Z programu szczepień mogą być wyłączone stada uznane oficjalnie za wolne od BHV1 oraz stada bydła młodszego niż 2 lata, jeżeli jest ono serologicznie negatywne. Stada te podlegają ścisłemu nadzorowi sanitarno-weterynaryjnemu, a nowe zwierzęta wprowadzane do tych stad muszą pochodzić ze stad wolnych od IBR. Różnicowanie zwierząt naturalnie zakażonych BHV1 od szczepionych szczepionkami znakowanymi oparte jest na badaniu serologicznym z użyciem odpowiedniego testu ELISA. Stado uznawane jest za wolne od IBR jeżeli wszystkie zwierzęta nie posiadają przeciwciał dla glikoproteiny gE wirusa BHV1. W momencie uzyskania takiego stanu szczepienia zwierząt mogą być przerwane.

Analizując przedstawione dane należy stwierdzić, że dotychczas jedyną skuteczną metodą zwalczania IBR była metoda radykalna. Metoda ta, ze względów ekonomicznych, była stosowana jedynie w krajach bogatych o niskim współczynniku rozprzestrzenienia zakażeń wirusem BHV1. Aktualnie, duże nadzieje wiąże się z zastosowaniem szczepionek znakowanych, które pozwalają na serologiczne różnicowanie zwierząt szczepionych od zakażonych szczepami terenowymi wirusa BHV1 (3, 7, 11, 12). W przypadku zastosowania takich szczepionek zwierzęta gE-negatywne należy traktować jako BHV1-negatywne, co jednak rodzi pewne niebezpieczeństwo. Do tego konieczne jest jednak użycie odpowiednich testów serologicznych. Takie rozwiązanie z kolei jest trudne do zaak-

ceptowania przez państwa, które zwalczyły IBR lub nie stosują szczepień. Państwa te z reguły używają testów, które nie pozwalają na różnicowanie zwierząt na szczepione i zakażone i dlatego wszystkie zwierzęta gE-negatywne traktują jako zakażone. Chcąc doprowadzić do pomyślnego rozwiązania tego problemu konieczna jest wymiana informacji, współpraca między laboratoriami różnych państw, opracowanie standardów tak, aby zwierzęta były klasyfikowane na podstawie tych samych kryteriów.

Piśmiennictwo

1. Ackermann M., Belak S., Bitsch V., Edwards S., Moussa A., Rockborn G., Thiry E.: Vet. Microbiol. 23, 361, 1990.
2. Ackermann M., Muller H. K., Bruckner L., Kihm U.: Vet. Microbiol. 23, 365, 1990.
3. Bosch J. C., Kaashoek M. J., Kroese A. H., Van Oirschot J. T.: Vet. Microbiol. 52, 223, 1996.
4. Foulon T.: Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 15, 13, 1992.
5. Gibbs E. P. J., Rweyemamu M. M.: Vet. Bull. 47, 317, 1997.
6. IBR control programmes. Qualification and monitoring of the IBR-free status. Maastricht, June 26-27, 1997.
7. Kaashoek M. J., Moerman A., Madic J., Weerdmeester K., Maris-Veldhuis M., Rijsewijk F. A. M., Van Oirschot J. T.: Vaccine 13, 342, 1995a.
8. Kramps J. A., Perrin B., Edwards S., Van Oirschot J. T.: Vet. Microbiol. 53, 153, 1996.
9. Perrin B., Bitsch V., Cordioli P., Edwards S., Eloit M., Guerin B., Lenihan P., Perrin M., Ronsholt L., Van Oirschot J. T., Vanopdenbosch E., Wellemans G., Wizigmann G., Thibier M.: Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 12, 969, 1993.
10. Roizman B.: Arch. Virol. 123, 425, 1992.
11. Strube W., Auer S., Block W., Heinen E., Kretzdorn D., Rodenbach C., Schmeer N.: Vet. Microbiol. 53, 181, 1996.
12. Van Oirschot J. T., Kaashoek M. J., Rijsewijk F. A. M., Stegeman J. A.: J. Biotechnol. 44, 75, 1996.

Adres autora: dr Jerzy Rola, ul. Kaniowczyków 11/2, 24-100 Puławy

LLOYD D. H., LAMPORT A. I.: Aktywność szamponów zawierających chloroheksydynę *in vitro* w stosunku do *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Malassezia pachydermatis*. (Activity of chlorhexidine shampoos *in vitro* against *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Malassezia pachydermatis*). Vet. Rec. 144, 536-537, 1999 (19)

Chloroheksydyna jest silnym środkiem odkażającym o szerokim zakresie działania przeciwbakteryjnego. Z powodzeniem jest ona stosowana w odkażaniu ran i pola operacyjnego. Określono skuteczność szamponów zalecanych u psów w stosunku do *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Malassezia pachydermatis*. *S. intermedius* ginie w czasie poniżej 1 min. po ekspozycji na szampon zawierający 3 lub 4% chloroheksydyny (Chlorexi Derm 4%; DVM Pharmaceutical Pyoderm) w rozcieńczeniu 1/5 i 1/25 oraz po ekspozycji na szampon o zawartości 2% chloroheksydyny w rozcieńczeniu 1/5. *P. aeruginosa* ginie po 4 min. ekspozycji na szampon 4% w rozcieńczeniu 1/5 oraz po 8 min. ekspozycji na szampon o zawartości 3% chloroheksydyny w rozcieńczeniu 1/5 i 1/25, po 16 min. na szampon 4% w rozcieńczeniu 1/25 oraz po 30 min. po ekspozycji na działanie szamponu 2% w obydwu rozcieńczeniach. *M. pachydermatis* ginie po 8 min. ekspozycji na szampon o zawartości 3% chloroheksydyny w rozcieńczeniu 1/5 i 1/25, po 16 min. działania szamponu 4% w rozcieńczeniu 1/5. *S. intermedius* jest najbardziej podatny zaś *M. pachydermatis* najbardziej oporny na działanie chloroheksydyny.