

Bluetongue – choroba niebieskiego języka

PAWEŁ TRĘBAS, MARCIN SMRECZAK, JAN F. ŻMUDZIŃSKI

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

Trębas P., Smreczak M., Żmudziński J. F.

Bluetongue

Summary

Bluetongue is an infectious, noncontagious, insect-borne viral disease of sheep, as well as domestic and wild ruminants, such as goats, cattle, deer and most species of African antelope. Clinical signs of the disease are uncommon in domestic animals and are generally found only in sheep and some wild ruminants. Although the frequency of bluetongue virus infection of cattle is generally higher than in sheep, overt disease in cattle is rare and, when it occurs, the signs are much milder than those observed in sheep. The disease was first recognized in South Africa. In the past 40 years, however, clinical and serological evidence of infection has been found in many countries outside Africa. Midges of the genus *Culicoides* transmit bluetongue virus to and from susceptible animals, having become infected by feeding on viraemic vertebrates. The central role of the insect in bluetongue epidemiology ensures that prevalence of the disease is governed by ecological factors such as high rainfall, temperature and humidity, which favor insect survival. In many parts of the world, therefore, the disease has a seasonal occurrence.

Keywords: bluetongue, *Culicoides*

Choroba niebieskiego języka (bluetongue) jest niezaraźliwą chorobą zakaźną, przenoszoną przez komary. Chociaż występuje ona u domowych i wolno żyjących przeżuwaczy, to jedynie u owiec infekcja przebiega wśród wyraźnych objawów klinicznych. Choroba ta znajduje się na liście A OIE, co świadczy o jej dużym znaczeniu gospodarczym. Pierwsze przypadki choroby zarejestrowano i opisano w Afryce Południowej. Pierwotnie sądzono, że występowanie choroby ograniczone jest tylko do obszaru Afryki. Pojawienie się zachorowań na innych kontynentach spowodowało duże zainteresowanie tą jednostką chorobową. Rozległe badania doprowadziły do znacznego poszerzenia wiedzy na temat choroby niebieskiego języka.

Charakterystyka wirusa

Wirus bluetongue należy do rodziny *Reoviridae*, rodzaju *Orbivirus*. Wirion posiada kształt dwudziestościanu, średnicę wynoszącą 70 nm i otoczony jest podwójną warstwą kapsydu. Genom wirusa składa się z dziesięciu segmentów dwuniciowego RNA, kodującego 7 białek strukturalnych i 4 białka niestrukturalne. Dwa z nich, tworzące zewnętrzną warstwę kapsydu, odpowiedzialne są za reakcje immunologiczne w organizmie zainfekowanego zwierzęcia. Białko VP7 daje reakcje krzyżowe dla całej grupy serologicznej orbivirusów, natomiast VP2, hemaglutynina, jest najbardziej zróżnicowanym białkiem, które posiada epitopy, określające serotyp wirusa. Do chwili obecnej na świecie znane są 24 serotypy (3, 6, 7, 14).

Wirus choroby niebieskiego języka jest odporny na warunki środowiskowe, zwłaszcza w obecności białka. Wykazuje dużą stabilność w 20°C i 4°C, a zliofilizowany może być przechowywany praktycznie bez ograniczeń czasowych. Inaktywacja w temperaturze 50°C zachodzi

po 3 godzinach, a w temperaturze 60°C po 15 minutach. Wirus zachowuje swoje właściwości zakaźne w zakresie pH pomiędzy 6 a 8. Odporny jest na rozpuszczalniki lipidowe, takie jak eter i chloroform, a dzięki dwuniciowej strukturze RNA odporny jest na ultrafiolet i promieniowanie gamma. Do najskuteczniejszych środków inaktywujących wirus bluetongue należą preparaty jodoforowe (2, 5).

Charakterystyczną cechą orbivirusów jest to, że ich replikacja zachodzi w różnych temperaturach, w zależności od organizmu, w którym przebywa (u owadów w zakresie 22-27°C, a u ssaków w 37°C) (11).

Epidemiologia

Pierwsze wzmianki i opisy choroby niebieskiego języka pochodzą z Afryki Południowej. Przez długi czas był to jedyny obszar, gdzie notowano przypadki choroby. Obecnie wirus bluetongue występuje niemal na całym świecie, obejmując swoim zasięgiem Australię i Oceanię, Amerykę Północną i Południową, Azję. Na obszarze tym żyje ponad 70% światowej populacji owiec. W Europie pierwsze wybuchy choroby pojawiły się w 1943 r. na Cyprze i w 1956 r. na Półwyspie Iberyjskim. Na przestrzeni ostatnich lat wirus rozprzestrzenił się na wiele krajów basenu Morza Śródziemnego. Zachorowania stwierdzono w Grecji, Jugosławii, Chorwacji, Macedonii, Bułgarii, na południu Włoch i kilku wyspach: Korsyce, Sardynii, Cyprze, Majorce, Sycylii (2, 4, 5).

Wirus choroby niebieskiego języka izolowany jest od owiec, bydła, kóz, wolno żyjących przeżuwaczy i od większości afrykańskich antylop. Funkcję biologicznego wektora w przenoszeniu wirusa pełnią komary z rodzaju *Culicoides*. Wiele gatunków wchodzących w skład tego rodzaju spotkać można w każdym rejonie świata,

gdzie notuje się występowanie choroby niebieskiego języka. Zakażenie komarów następuje podczas pobrania krwi od zakażonych zwierząt. Replikacja wirusa zachodzi w śliniankach komarów, gdzie osiąga on najwyższą koncentrację po 7 dniach od momentu zakażenia. Komary pozostają nosicielami przez całe życie (2, 3, 10, 11).

Przebieg choroby jest bardzo zróżnicowany, od zejść śmiertelnych do przypadków przebiegających bez wyraźnych objawów chorobowych. Te ostatnie przeważają u większości gatunków. Transmisja wirusa odbywa się tylko drogą pozajelitową. Zwierzęta są odporne na zakażenie *per os*. Wydaliny i wydzieliny zainfekowanych zwierząt zawierają minimalne ilości wirusa i uważane są za bezpieczne. Jedynie nasienie buhajów w czasie wiremii może zawierać wirusy zdolne do zakażenia inseminowanych krów (2, 8).

Przypuszcza się, że wirus choroby niebieskiego języka pierwotnie krążył pomiędzy afrykańskimi antylopami za pośrednictwem komarów. Choroba rozszerzyła swój zasięg po wprowadzeniu w Afryce Południowej hodowli owiec rasy merynos, które okazały się bardzo wrażliwe na infekcję. Obrót zwierzętami i przemieszczanie się wektorów doprowadziły do rozprzestrzenienia się choroby poza obszar Afryki, a rolę rezerwuaru przejęło bydło. Zachorowania owiec pojawiają się sezonowo, późnym latem i jesienią. Panują wówczas najbardziej korzystne warunki atmosferyczne, sprzyjające rozwojowi komarów (8, 11, 15).

Patogeneza

Po wnikięciu do organizmu wirus choroby niebieskiego języka replikuje w regionalnych węzłach chłonnych, następnie w całej tkance limfatycznej oraz w śródbłonku naczyń kapilarnych i małych naczyń krwionośnych. Prowadzi to do przerostu i rozrostu śródbłonka, czego następstwem jest zamknięcie światła naczyń, zastój krwi i w konsekwencji wysięk. Niedokrwienie przyległych tkanek prowadzi do powstania uszkodzeń w nabłonku. Wirus pojawia się w krwiobiegu zaraz po rozpoczęciu replikacji w komórkach docelowych i roznoszony jest po całym ciele. Stwierdzenie obecności wirusa we krwi możliwe jest 3.-6. dnia po zakażeniu, co uzależnione jest od ilości zdeponowanego wirusa i miejsca podania. Wiremia osiąga szczyt 7.-8. dnia, po czym ulega szybko zmniejszeniu. U owiec nie można stwierdzić wirusa we krwi już po 14 dniach od zakażenia, podczas gdy u bydła wiremia utrzymuje się znacznie dłużej. Wirus bluetongue związany jest z erytrocytami i leukocytami, a rzadko występuje wolny we krwi (3, 4, 12).

Objawy kliniczne

Wrażliwość na zakażenie wykazują wszystkie owce, chociaż objawy kliniczne mogą znacznie różnić się między rasami, a nawet między poszczególnymi stadami. Owce pochodzące z Afryki są odporne, a jedynym objawem jest lekka gorączka, podczas gdy u merynosów czy ras europejskich objawy są dużo bardziej nasilone i często prowadzą do padnięć zwierząt (2, 4, 5, 12).

Okres inkubacji u owiec wynosi 5-15 dni. Pierwszym objawem choroby jest zawsze podwyższenie temperatu-

ry ciała, osiągającej szczyt 7.-8. dnia. Temperatura często przekracza 41°C, a w niektórych przypadkach nawet 42°C (2, 4).

Drugiego dnia trwania gorączki pojawiają się inne objawy kliniczne. Skóra pyska staje się przekrwiona, rozwija się obrzęk warg, powiek, uszu i często znaczny obrzęk przestrzeni międzyzuchwowej. Widoczne są punktikowe wybroczyny na pysku i śluzówce jamy ustnej. Poza tym w nozdrzach i jamie gębowej, zwłaszcza na policzkach i języku w pobliżu siekaczy tworzą się płytkie nadżerki. Wyczuwalny jest nieprzyjemny zapach z jamy ustnej. Widocznym objawem jest ból, co manifestuje się częstymi ruchami języka i warg oraz mlaskaniem. Owce zanurzają pysk w wodzie przez dłuższy czas, a w czasie badania obserwuje się znaczną bolesność dotykową. Na koniuszku języka widoczne są punktikowe wybroczyny i przekrwienie, w późniejszym okresie powstaje obrzęk i znaczna opuchlizna, co powoduje, że język staje się siny i wystaje z jamy ustnej. Wyciek z nosa zasycha i tworzy skorupę, utrudniającą oddychanie. Zwiększa się liczba oddechów i pojawia się duszność. W konsekwencji dochodzi do obrzęku pęcherzyków płucnych (2, 4).

Przekrwienie może przenieść się na resztę ciała, zwłaszcza na okolice pachwin i krocza, doprowadzając do zmian skóry i nieprawidłowego wzrostu wełny (2, 4).

Wraz z ustępowaniem gorączki pojawiają się zmiany na kończynach. Początkowo obserwuje się przekrwienie na koronce racic, następnie punktikowe i pasmowate wybroczyny. Częściej zajęte są racice kończyn tylnych, zwłaszcza ich powierzchnie boczne. Z powodu znacznego bólu zwierzęta niechętnie się poruszają i przyjmują postawę ulgową z łukowato wygiętym grzbietem. Po 1-2 tygodniach puszcza rogowa racic zaczyna się oddzielać, jej całkowite zrzucie następuje po 3-4 miesiącach (2, 4).

U chorych owiec pojawia się znaczne wychudzenie i osłabienie. Częściowo jest to spowodowane utrudnionym pobieraniem pokarmu i odwodnieniem, a także znaczną degeneracją mięśni. W niektórych przypadkach powstaje kręć szyi, uniemożliwiając zwierzętom zachowanie równowagi (2, 4).

Powrót do zdrowia przebiega różnie, w zależności od nasilenia choroby. Zmiany w jamie gębowej goją się szybko, na pysku i na nozdrzach znikają po 5 dniach. Nadżerki mogą pozostawić drobne blizny. Zwierzęta ze zmianami w mięśniach są bardzo słabe i zdrowieją wolno (2, 4).

W przypadku formy nadostrej, około 7.-9. dnia po zakażeniu, notuje się padnięcia zwierząt. Wskaźnik śmiertelności wynosi zwykle 2-30%, ale może ulec wzrostowi przy niekorzystnych warunkach atmosferycznych, zimnie, wilgoci, co ma zwykle miejsce jesienią (2, 4).

Na zakażenie wirusem choroby niebieskiego języka wrażliwe są płody owiec i bydła, zwłaszcza w okresie rozwoju centralnego układu nerwowego. Zwykle rozwija się wodogłowie i wrodzone deformacje. U bydła, mimo że ilość zakażonych zwierząt jest wyższa niż u owiec, objawy kliniczne są rzadkie i zwykle związane z reakcją nadwrażliwości (2, 4, 8).

Zmiany anatomopatologiczne

Śluzówka jamy ustnej jest przekrwiona, obrzękła. Czysami widoczna jest sinica i wybroczyny punkcikowe. Na powierzchni języka i wewnętrznej stronie warg i policzków obserwuje się nadżerki. Przekrwiona jest również śluzówka przedżołądków, zwłaszcza ksiąg, gdzie zmiany są bardzo wyraźnie widoczne.

Jama opłucnowa wypełniona jest znaczną ilością płynu. Obrzęk pęcherzyków płucnych jest duży, a całe drzewo oskrzelowe wypełnione jest pianą. Pod opłucną widać wybroczyny punkcikowe i rozległe przekrwienie.

Charakterystyczną zmianą są wyraźnie widoczne wybroczyny na nierzadzi, tuż przy podstawie tętnicy płucnej. Ich średnica dochodzi do 15 milimetrów, a wyrzuczenie ponad powierzchnię pozwala łatwo je dostrzec. Worek osierdziowy może być wypełniony płynem. Pod wsierdziem i osierdziem, zwłaszcza lewej komory, widoczne są wybroczyny.

Śledziona może być lekko powiększona, z wybroczynami. Węzły chłonne są blade, obrzękłe i powiększone. W mięśniach szkieletowych stwierdza się dużego stopnia zmiany zwyrodnieniowe i martwicze, włókna mięśniowe tracą pigmentację. Skóra jest wyraźnie przekrwiona, zwłaszcza w miejscach nie porośniętych wełną (2, 4).

Diagnostyka

Obecnie w diagnostyce choroby niebieskiego języka stosuje się wiele metod. Można je podzielić na trzy grupy: izolacja wirusa, wykrywanie wirusowego kwasu nukleinowego, wykrywanie wirusa lub przeciwciał.

Do izolacji wirusa można zastosować dwie metody, podskórną inokulację owiec i zakażanie zarodków kurzych. Izolację przeprowadza się również w hodowlach komórkowych BHK-21, Vero i AA, jednak przy niskim mianie wirusa w badanym materiale nie uzyskuje się zadowalających wyników. Identyfikację przeprowadza się za pomocą immunofluorescencji.

Duży postęp w diagnostyce bluetongue stanowi zastosowanie PCR. Dzięki amplifikacji RNA można nie tylko wykazać obecność wirusa, ale również różnicować serotypy, a co za tym idzie, ustalić jego geograficzne pochodzenie. Czulość testu pozwala na wykrycie materiału genetycznego nawet po 90 dniach od momentu, kiedy wirus mógł być izolowany.

Do wykrywania przeciwciał najczęściej używany jest test immunodyfuzji w żelu agarowym i test ELISA. Test immunodyfuzji jest prosty w wykonaniu, tani i wiarygodny. Wadą tego testu jest mała specyficzność otrzymywanych wyników, ponieważ wykrywa przeciwciała skierowane przeciwko innym orbivirusom. Mimo braku specyficzności, test immunodyfuzji jest szeroko używany do badań screeningowych. Wykrycie przeciwciał specyficznych jedynie dla wirusa choroby niebieskiego języka umożliwia test ELISA.

Materiałem do badań jest krew pobierana na antykoagulant od zwierząt w czasie trwania gorączki. W przypadku zwłok do badań przesyła się śledzionę, wątrobę, szpik kostny lub węzły chłonne. Wszystkie próbki powinny być przechowywane w temperaturze 4°C (1, 2).

Profilaktyka

Zwalczanie i profilaktyka choroby niebieskiego języka stanowi duży problem w krajach, w których występuje. Istnieją dwie przyczyny tej sytuacji. Pierwszą jest fakt, że rezerwuarem wirusa jest duża liczba zwierząt dzikich i domowych, u których występuje zakażenie bezobjawowe, co nie pozwala wyeliminować źródła infekcji. Po drugie, niemożliwa jest eliminacja, a nawet redukcja liczby komarów, biorących udział w transmisji zarazki. Rozpowszechnione w środowisku, są w stanie przemieszczać się z wiatrem na znaczne odległości, powodując przy tym rozprzestrzenianie się choroby na dużym obszarze. Jedyną metodą stosowaną w zapobieganiu szerzenia się choroby jest immunizacja owiec (1, 9).

Obecnie w Afryce Południowej, USA i kilku innych krajach stosowana jest szczepionka atenuowana. Stymuluje ona silną i długotrwałą odporność. Są to szczepionki, w których skład wchodzi najczęściej występujące na danym terenie serotypy. Immunizacja zwierząt innymi serotypami niż te, które powodują zachorowania, nie zapewnia dostatecznej ochrony. Poza zaletami związanymi ze stosowaniem szczepionki atenuowanej, istnieje jednak ryzyko rewersji wirusa szczepionkowego do formy zjadliwej lub powstania rekombinantów szczepów szczepionkowych ze szczepami terenowymi. Szczepionka może powodować również poronienia i wady rozwojowe u płodów przeżuwaczy, zwłaszcza w okresie kształtowania centralnego układu nerwowego. Obecnie prowadzone są badania nad opracowaniem nowych, skuteczniejszych i bardziej bezpiecznych szczepionek, które mogą być stosowane w walce z chorobą niebieskiego języka (1, 5, 9, 13).

Laboratorium referencyjnym w Polsce zajmującym się chorobą niebieskiego języka jest Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach.

Piśmiennictwo

1. Anon.: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines, rozdz. 2, 1, 9. O. I. E. Standards Commission 2000, 153-167.
2. Bowne J. G.: Bluetongue disease. Adv. Vet. Sci. Comp. Med. 1971, 15, 1.
3. Eaton B. T., Hyatt A. D., Brookes S. M.: The replication of bluetongue virus. Curr. Topics Microbiol. Immun. 1990, 162, 89-118.
4. Erasmus B. J.: Bluetongue in sheep and goats. Aust. Vet. J. 1975, 51, 165-170.
5. Erasmus B. J.: The epidemiology and control of bluetongue in South Africa. Bull. Off. int. Epizoot. 1980, 92, 461-467.
6. French T. J., Marshall J. J. A., Roy P.: Assembly of double shelled virus particles of bluetongue virus by the simultaneous expression of four structural proteins. J. Virol. 1990, 64, 5695-5700.
7. Grimes J., Basak A. J.: The crystal structure of bluetongue virus VP7. Nature, Lond. 1995, 373, 167-170.
8. Hourigan J. L., Klingsporn A. L.: Bluetongue: The disease in cattle. Aust. Vet. J. 1975, 51, 170-174.
9. Huismans H., Van der Walt N. T.: Isolation of a capsid protein of bluetongue virus that induces a protective immune response in sheep. Virology 1987, 157, 172-179.
10. Koumbasi M., Mangana O., Nomikou K., Mellor P. S., Papadopoulos O.: Duration of bluetongue viraemia and serological responses in experimentally infected European breeds of sheep and goats. Vet. Microbiol. 1999, 64, 277-285.
11. Mellor P. S.: The replication of bluetongue virus in culicoides vectors. Curr. Topics Microbiol. Immun. 1991, 162, 143-161.
12. Parsonson T. M.: Pathology and pathogenesis of bluetongue virus infections. Curr. Topics Microbiol. Immun. 1991, 162, 119-141.
13. Roy P., French T. J., Erasmus B. J.: Protective efficacy of virus-like particles for bluetongue disease. Vaccine 1992, 10, 28-32.
14. Verwoerd D. W., Els H. J., De Villiers E. M., Huismans H.: Structure of the bluetongue virus capsid. J. Virol. 1972, 10, 783-794.
15. Ward M. P.: Seasonality of infection of cattle with bluetongue viruses. Prev. Vet. Med. 1996, 26, 133-141.

Adres autora: lek. wet. Paweł Trębas, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: p.trebas@piwet.pulawy.pl