

Występowanie przeciwciał dla herpeswirusów EHV1 i EHV4 w populacji koni na terenie południowo-wschodniej Polski

ZBIGNIEW GRĄDZKI, LILIANA BOGUTA

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Grądzi Z., Boguta L.

Seroprevalence of EHV1 and EHV4 in the horse population of the southeastern part of Poland

Summary

The aim of the study was to investigate the seroprevalence of EHV1 and EHV4 in the horse population of the southeastern part of Poland. Selected horse farms, including breeding farms, stallion herds, purchasing centers and riding clubs were included in the studies. Blood samples were taken from 650 adult horses and foals of different age groups from 23 farms. To check for the specific antibodies against EHV1 and EHV4 in the serum samples, the commercial ELISA test (Svanovir EHV1/4 Ab discriminating ELISA, Svanova Biotech, Uppsala, Sweden) was used. Specific antibodies against EHV4 were detected in all farms. The percentage of seropositive horses in particular stables ranged between 75-100% (average 91.8%). The highest percentage of seropositive horses was detected in the group of young animals between 7-11 months. In other age groups the percentage of seropositive horses was lower and ranged between 79.8-96.6%. The least seropositive animals were detected in the group of horses more than 10 years old. It was demonstrated that the farm type and sex of horses did not influence the serological results. The number of horses in the farm significantly influenced the serological results ($P < 0.05$). Specific antibodies against EHV1 were detected in serum samples taken from 17 out of 23 horse farms. The percentage of seropositive horses (EHV1) in the studied population was lower in comparison with the percentage of horses positive for EHV4 antibodies and ranged between 5 and 50% (average 13.5%). Specific antibodies against EHV1 were detected only in horses above 1 year of age. The relationships between the farm type, sex of horses, number of horses in the farm and serological results were similar to these concerning antibodies against EHV4.

Keywords: horse, herpesviruses, EHV1, EHV4, seroprevalence, ELISA

Herpeswirusy koni EHV1 i EHV4 należą do podrodziny *Alphaherpesviridae* w obrębie rodziny *Herpesviridae* (8, 9, 22). Wirus EHV1 jest główną przyczyną ronień u ciężarnych klaczy (1, 2). Sporadycznie może on wywoływać zakażenia układu oddechowego oraz zapalenie mózgu i rdzenia koni (23). EHV4 powoduje głównie łagodnie przebiegające zakażenia układu oddechowego u źrebiąt i młodych koni, natomiast wyjątkowo może być przyczyną ronień (8). Obydwa herpeswirusy występują ubikwitalnie w środowisku bytowania zwierząt i wykazują zdolność wywoływania trwałych zakażeń latentnych (3, 21). Zakażenia herpeswirusowe są przyczyną znacznych strat ekonomicznych w hodowli koni (16, 26).

Pomimo różnic w budowie antygenowej pomiędzy szczepami EHV1 i EHV4, stymulują one u zwierząt produkcję przeciwciał w pełni reagujących krzyżowo (15). Fakt ten utrudnia interpretację wyników badań serologicznych, wykonywanych przy użyciu konwencjonalnych metod diagnostycznych. W latach 90. ubiegłego

wieku Crabb i wsp. (6, 7) opracowali test ELISA, w którym jako antygeny w fazie stałej wykorzystano fragmenty glikoproteiny G szczepów EHV1 i EHV4, produkowane przez genetycznie zmodyfikowane bakterie *E. coli*. Antygeny te zawierały epitopy typowo-specyficzne, dzięki którym stało się możliwe wykrywanie oraz różnicowanie przeciwciał przeciwko EHV1 i EHV4.

Dostępne na rynku szczepionki przeciwko zakażeniom herpeswirusowym koni częściowo ograniczają ich rozprzestrzenianie się w środowisku, natomiast nie zapewniają pełnej ochrony przed zakażeniem oraz latencją (5). Dlatego podstawowe znaczenie dla ochrony przed skutkami infekcji ma identyfikacja zakażonych koni oraz ich izolacja i ewentualne leczenie (2, 10).

Z danych epidemiologicznych wynika, że zakażenia herpeswirusowe występują powszechnie w populacji koni na całym świecie (11-14, 17, 24). Także w Polsce notowane były pojedyncze przypadki ronień u klaczy na tle zakażenia EHV1, jak również, wywoływane przez ten wirus, fale ronień masowych, stwierdzone

w stadninach hodowlanych (19, 20, 25). Brak jest natomiast informacji na temat występowania oraz znaczenia herpeswirusa koni typu 4 (EHV4) w kontekście wywoływania zakażeń górnych dróg oddechowych koni. Ponadto w warunkach krajowych nie wykonywano dotychczas szerzej zakrojonych badań seroepizootiologicznych, pozwalających na określenie występowania oraz stopnia rozprzestrzenienia zakażeń herpeswirusowych EHV1 i EHV4 w populacji koni.

Celem pracy było określenie, na podstawie badań serologicznych, stopnia rozprzestrzenienia zakażeń herpeswirusowych koni (EHV1 i EHV4) na terenie południowo-wschodniej Polski. Badaniami objęto wybrane ośrodki hodowli koni, w tym stadniny hodowlane, stada ogierów, punkty skupu koni rzeźnych oraz kluby jeździeckie.

Materiał i metody

Próbki krwi pobrano od 650 koni dorosłych i źrebiąt, należących do różnych grup wiekowych, pochodzących z 23 ferm. Dane dotyczące rodzaju fermy, liczebności grup, wieku oraz płci zwierząt zamieszczono w tabeli 1. Krew pobierano od zwierząt nie szczepionych przeciwko wirusowemu ronieniu

klaczy. Większość koni była natomiast szczepiona przeciwko grypie i tężcowi według programu immunizacji właściwego dla danej grupy wiekowej. Na podstawie obserwacji klinicznych oraz danych z wywiadu ustalono, że w okresie pobierania prób do badań serologicznych oraz wcześniejszym w żadnej z ferm nie stwierdzano u klaczy poronień powodowanych przez herpeswirusy. Regularnie natomiast, zwłaszcza w okresie wiosenno-letnim, u zwierząt pojawiały się infekcje górnych dróg oddechowych o różnym nasileniu i bliżej nie ustalonej etiologii, które ze względu na charakter objawów klinicznych kwalifikowano do grupy zakażeń wirusowych bądź inicjowanych przez wirusy. Zakażenia te dotyczyły głównie źrebiąt i młodych koni w wieku do 2. roku życia.

Krew pobierano do próbek podciśnieniowych z aktywatorem wykrzepiania i separacji surowicy (Vacuette, Medlab). Probówki wirowano w temperaturze pokojowej (20-22°C) przez 15 minut przy 1000 g. Surowicę wykorzystywano do oznaczeń bezpośrednio po uzyskaniu lub porcejowano ją i przechowywano do dalszych badań w temperaturze -20°C.

W badaniach wykorzystano komercyjny zestaw ELISA (Svanovir EHV1/4 Ab discriminating ELISA, Svanova Biotech, Uppsala, Sweden). Surowice badano testem ELISA zgodnie z zaleceniami podanymi przez producenta. Odczytu absorbancji dokonywano przy długości fali $\lambda = 450$ nm, przy

Tab. 1. Pochodzenie materiału do badań serologicznych, rodzaje ferm, liczba koni w zależności od płci i wieku

Ferma	Rodzaj fermy	Liczba koni	Płeć			Wiek				
			F*	Mc**	M***	5-6 m-cy	7-11 m-cy	1-2 lata	2-10 lat	> 10 lat
I	Hodowla koni rzeźnych	34	9	23	2	18	8	5	3	0
II	Klub jeździecki	22	13	8	1	0	0	5	14	3
III	Konie rzeźne i robocze	32	18	11	3	0	0	3	29	0
IV	Klub jeździecki	20	10	5	5	0	2	3	11	4
V	Klub jeździecki	16	8	7	1	2	2	3	7	2
VI	Klub jeździecki	15	6	7	2	0	1	3	9	2
VII	Stado ogierów	134	0	16	118	0	10	12	88	24
VIII	Klub jeździecki	17	7	10	0	1	2	3	8	3
IX	Klub jeździecki	11	8	3	0	0	0	0	8	3
X	Stado ogierów	42	0	0	42	0	0	7	25	10
XI	Klub jeździecki	8	4	4	0	0	2	1	5	0
XII	Klub jeździecki	12	6	4	2	0	1	1	10	0
XIII	Stadnina	99	72	0	27	14	15	20	40	10
XIV	Hodowla koni rzeźnych	12	4	8	0	4	3	1	4	0
XV	Stadnina	28	23	0	5	0	10	0	10	8
XVI	Klub jeździecki	14	6	8	0	1	0	2	11	0
XVII	Stadnina	40	35	0	5	0	9	9	20	2
XVIII	Skup koni rzeźnych	13	8	5	0	0	4	0	2	7
XIX	Klub jeździecki	16	6	9	1	0	1	1	6	8
XX	Konie sportowe	40	18	9	13	0	0	10	16	14
XXI	Konie robocze	5	2	3	0	0	0	0	3	2
XXII	Konie prywatne, do rekreacji	7	3	4	0	0	0	0	3	4
XXIII	Klub jeździecki	13	8	5	0	0	0	0	5	8
RAZEM:		650	274	149	227	40	70	89	337	114

Objaśnienia: *F – klacz, **Mc – wałach, ***M – ogier

użyciu czytnika do mikropłytek Multiscan RC v1.5-0, Lab-systems, Helsinki, Finlandia, współpracującego z programem Labsystem Genesis v3.00. Uzyskane wartości korygowano, pomniejszając wartości absorbancji względem testowego antygeny o wartości dla antygeny kontrolnego. Wynik reakcji uznawano za dodatni, jeżeli skorygowana wartość absorbancji badanej próbki była większa od 0,2. Przy wartości OD (Optical density) mniejszej od 0,1 wynik uznawano za ujemny. Wartości OD w przedziale pomiędzy 0,1 i 0,2 kwalifikowały próbkę do ponownego badania, którego wynik uznawano za rozstrzygający.

Analiza statystyczna. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 5.1. Do badania zależności pomiędzy wiekiem zwierząt, płcią, liczebnością pogłowia oraz rodzajem środowiska a liczbą wyników dodatnich testu zastosowano metodę korelacji wg Kołmogorowa, przy $p < 0,05$.

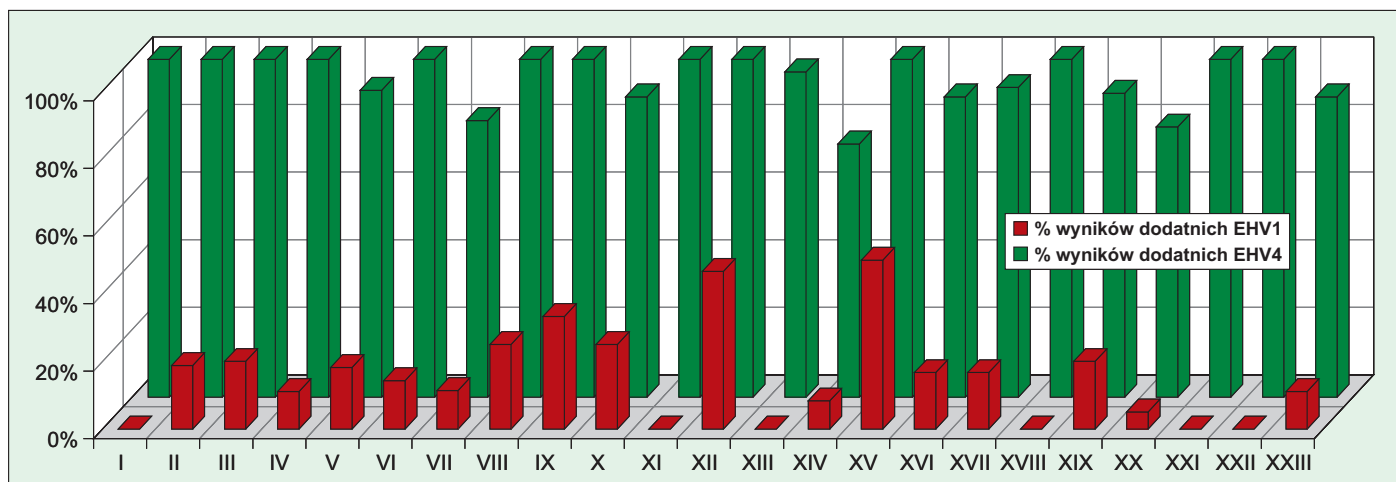
Wyniki i omówienie

Wyniki badań serologicznych w kierunku wykrywania przeciwciał przeciwko herpeswirusom koni (EHV1 i EHV4) prezentuje ryc. 1 i tab. 2. Jak wynika z danych przedstawionych na rycinie i w tabeli, we wszystkich fermach, z których pobierano materiał do badań, stwierdzono u koni występowanie przeciwciał dla wirusa EHV4. Odsetek koni seropozytywnych w poszczególnych fermach wahał się od 75% do 100% (średnio 91,8%). Największy odsetek dodatnich seroreagentów (do 97,1%) stwierdzano w grupie młodych koni w wieku od 7 do 11 miesięcy (ryc. 2, tab. 3). W pozostałych grupach wiekowych odsetek koni posiadających przeciwciała dla EHV4 był niższy i wynosił od 79,8% do 96,6%. Najmniej dodatnich seroreagentów (79,8%) stwierdzono w grupie koni starszych, w wieku powyżej 10 lat (ryc. 2, tab. 3). Konfrontując dane przedstawione na ryc. 1 i 2 z zawartymi w tabeli 1 można stwierdzić, że płeć koni oraz charakter środowiska bytowania zwierząt nie miały związku z odsetkiem seroreagentów dodatnich. Odsetek ten zależny był natomiast od wielkości populacji koni w poszczególnych fermach ($p < 0,05$); im więcej koni przebywało w danym środowisku, tym więcej było zwierząt posiadających przeciwciała dla EHV4.

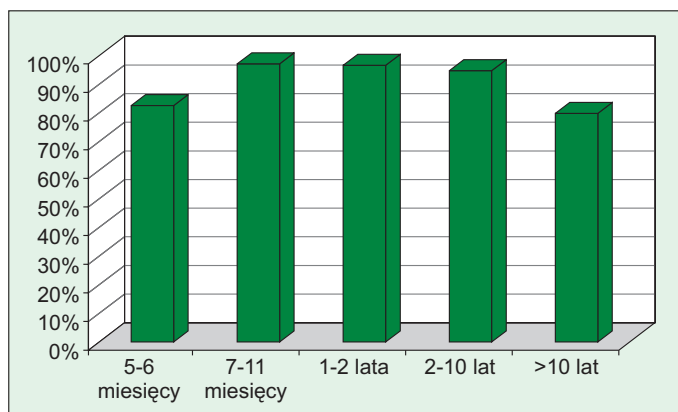
Tab. 2. Wyniki badań serologicznych w kierunku występowania przeciwciał przeciwko EHV1 i EHV4 w badanych fermach

Ferma	Liczba zwierząt badanych	Liczba (n) i odsetek (%) wyników dodatnich			
		EHV1		EHV4	
		n	%	n	%
I	34	0	0,0	34	100,0
II	22	4	18,2	22	100,0
III	32	6	18,8	32	100,0
IV	20	2	10,0	20	100,0
V	16	3	18,8	15	93,8
VI	15	2	13,3	15	100,0
VII	134	15	11,2	110	82,1
VIII	17	4	23,5	17	100,0
IX	11	4	36,4	11	100,0
X	42	11	26,2	37	88,1
XI	8	0	0,0	8	100,0
XII	12	6	50,0	12	100,0
XIII	99	0	0,0	95	96,0
XIV	12	1	8,3	9	75,0
XV	28	14	50,0	28	100,0
XVI	14	2	14,3	12	85,7
XVII	40	7	17,5	37	92,5
XVIII	13	0	0,0	13	100,0
XIX	16	3	18,8	14	87,5
XX	40	2	5,0	32	80,0
XXI	5	0	0,0	5	100,0
XXII	7	0	0,0	7	100,0
XXIII	13	1	7,7	12	92,3
RAZEM:	650	88	13,5%	597	91,8%

Specyficzne przeciwciała dla wirusa EHV1 stwierdzono w surowicy koni pochodzących z 17 spośród 23 badanych ferm (ryc. 1, tab. 2). Odsetek koni reagują-



Ryc. 1. Wyniki badań serologicznych w kierunku wykrywania przeciwciał przeciwko herpeswirusom koni (EHV1 i EHV4) w 23 fermach



Ryc. 2. Odsetek koni posiadających przeciwciała przeciwko EHV4 w zależności od wieku

Tab. 3. Wyniki badań serologicznych koni w kierunku występowania przeciwciał przeciwko EHV4 w zależności od wieku zwierząt

Wiek badanych koni	Odsetek zwierząt seropozytywnych EHV4
0-4 miesiące	nie badano
5-6 miesięcy	82,5%
7-11 miesięcy	97,1%
1-2 lata	96,6%
2-10 lat	94,7%
> 10 lat	79,8%

cych dodatkowo w poszczególnych fermach był znacznie niższy w porównaniu do odsetka zwierząt posiadających przeciwciała dla EHV4 i wahał się w granicach od 5% do 50% (średnio 13,5%). Przeciwciała dla EHV1 wykrywano wyłącznie u koni w wieku powyżej 1 roku. Podobnie jak w przypadku analizy serologicznej pod kątem występowania przeciwciał dla EHV4, także w odniesieniu do seroreagentów posiadających przeciwciała dla EHV1 nie stwierdzono zależności pomiędzy odsetkiem zwierząt seropozytywnych a rodzajem środowiska oraz płcią i wiekiem koni. Analogiczny, statystycznie istotny, dodatni wpływ ($p < 0,05$) na liczbę zwierząt seropozytywnych miała natomiast wielkość pogłowia zwierząt w danej fermie.

Równoczesne występowanie przeciwciał przeciwko obydwu typom herpeswirusów koni (EHV1 i EHV4) stwierdzono u 78 zwierząt (12%). U 43 koni (6,6%) nie wykazano natomiast w surowicy obecności przeciwciał przeciwko EHV1 i EHV4.

Wirusy zakaźnego zapalenia jamy nosowej i płuc (EHV1 i EHV4) odgrywają główną rolę w etiologii ronięń klaczy oraz zakażeń dróg oddechowych koni (1, 2, 8, 9). Wyniki badań opublikowanych w ostatnich latach przyczyniły się do pełniejszego wyjaśnienia wielu aspektów złożonej patogenetyki zakażeń herpeswirusowych koni, w tym mechanizmów sterujących zjawiskami latencji i persistencji wirusowej (3, 8, 9, 21). Całkowita eliminacja tych zakażeń nie jest jednak możliwa ze względu na zdolność trwałego utrzymywania się wiru-

sów w organizmie w formie, w której nie podlegają one nadzorowi ze strony mechanizmów obronnych (3, 21). Z tego względu coraz większego znaczenia nabierają badania z zakresu epidemiologii zakażeń herpeswirusowych, dotyczące występowania oraz rozprzestrzenienia tych infekcji u koni. Wyniki tych badań mogą stanowić podstawę skutecznego ograniczania transmisji obydwu typów herpeswirusów w stadninach poprzez izolację zwierząt zakażonych (10).

W przeprowadzonych badaniach dokonano pośredniej oceny rozprzestrzenienia zakażeń wywoływanych przez herpeswirusy koni typu 1 i 4 w populacji tych zwierząt w Polsce południowo-wschodniej. Uzyskane wyniki badań są zbliżone do opublikowanych wcześniej przez zespoły badawcze w Europie i na świecie (8, 9, 17). Analiza wyników wskazuje, że podobnie jak w innych krajach także w Polsce epidemiologia zakażeń wywoływanych przez EHV1 i EHV4 jest odmienna. Ogólną prawidłowością, niezależnie od regionu geograficznego, jest fakt powszechnego występowania w populacji koni specyficznych przeciwciał przeciwko EHV4 oraz znacznie mniejszy udział procentowy przeciwciał przeciwko typowi 1 herpeswirusa. W badaniach własnych przeciwciała przeciwko EHV4 stwierdzono u koni we wszystkich badanych fermach, natomiast odsetek zwierząt seropozytywnych w poszczególnych stadninach wynosił średnio 91,9%. Tak wysoki odsetek dodatnich seroreagentów świadczy o częstych kontaktach koni z wirusem, do których dochodzi na drodze transmisji bezpośredniej w przebiegu zakażeń jawnych lub w następstwie reaktywacji zakażenia ze stanu latencji oraz drogą pośrednią z udziałem zakaźnego aerozolu. Wyniki badań własnych oraz dane piśmiennictwa jednoznacznie wskazują, że herpeswirus koni typu 4 jest drobnoustrojem szeroko rozprzestrzenionym w populacji tych zwierząt w Polsce i na świecie. Można zatem przypuszczać, że udział tego zarazka w etiologii zakażeń górnych dróg oddechowych koni jest dominujący. Z uwagi jednak na mało typowe objawy kliniczne, towarzyszące infekcji, nie wydaje się możliwa identyfikacja zwierząt zakażonych wyłącznie na podstawie obserwacji klinicznych. Ponadto warto podkreślić, że odsetek koni posiadających przeciwciała przeciwko EHV4 z reguły jest znacznie większy od liczby przypadków ostrych zakażeń dróg oddechowych u tego gatunku zwierząt (8, 9). Te dane świadczą o częstym występowaniu zakażeń typem 4 herpeswirusa koni, przebiegających wśród słabo nasilonych objawów klinicznych lub bezobjawowo.

W przeciwieństwie do wyników badań w kierunku wykrywania przeciwciał przeciwko EHV4, w przypadku typu 1 herpeswirusa odsetek seroreagentów dodatnich był w badaniach własnych zdecydowanie niższy i wynosił średnio 13,5%. Podobne wyniki uzyskiwano w analogicznych badaniach wykonywanych w różnych przedziałach czasowych w innych krajach świata (8, 9, 14, 17). Badania Nordengrahn i wsp. (17) prowadzone w Szwecji wykazały obecność przeciwciał dla EHV1 u kilku do 54% koni w zależności od środowiska bytowania zwierząt, wieku oraz pory roku. Swoiste przeciwciała przeciwko EHV4 wykazano natomiast u znacz-

nie większego odsetka badanej grupy koni, który wynosił u zwierząt w wieku powyżej 1 roku 99,3-100%. U źrebiąt stwierdzono w tych badaniach wyraźną zależność pomiędzy odsetkiem zwierząt seropozytywnych, posiadających przeciwciała przeciwko EHV4 a ich wiekiem. W okresie utrzymywania się przeciwciał matczynych, trwającym do 6 miesiąca życia, odsetek ten wynosił 75%, w ciągu następnych dwóch miesięcy obniżał się do 27%, by w dalszym okresie ponownie wzrosnąć do 100%. Podobne wyniki autorzy ci uzyskali w badaniach przeprowadzonych w Islandii oraz w Sudanie. Odsetki zwierząt seropozytywnych w obu krajach wynosiły w odniesieniu do przeciwciał przeciwko EHV1, odpowiednio, 8% i 23%, a w przypadku EHV4, odpowiednio, 99,5% i 95%. Interesujące dane, odnośnie do rozprzestrzenienia zakażeń wywoływanych przez EHV1 i EHV4 opublikowane zostały przez badaczy z Australii (8, 9, 14). W kraju tym do późnych lat 70. ubiegłego wieku nie stwierdzano ronień na tle EHV1 ani nie prowadzono u koni swoistej profilaktyki z użyciem szczepionek, zawierających antygeny obydwu typów herpeswirusa. Wykorzystując test ELISA, umożliwiający różnicowanie przeciwciał przeciwko typowi 1 i 4 herpeswirusa, Crabb i Studdert (7) wykazali obecność przeciwciał przeciwko EHV1 tylko w 7 spośród 75 badanych surowic (9%), podczas gdy we wszystkich surowicach (100%) stwierdzono przeciwciała przeciwko EHV4. Cytowane badania miały charakter retrospektywny i obejmowały losową pulę surowic pobieranych w latach 1967-1974, tj. w okresie zanim potwierdzono w Australii pierwszy przypadek ronienia na tle EHV1. Nowsze badania tych autorów wskazują na zmianę sytuacji epidemiologicznej w zakresie występowania przeciwciał przeciwko typowi 1. W opublikowanych w latach 90. wynikach badań serologicznych przeciwciała przeciwko EHV1 stwierdzano już w 30% surowic koni w wieku powyżej 2 lat, natomiast przeciwciała przeciwko EHV4 nadal wykrywane były u wszystkich badanych zwierząt (9). Wykazany w ostatnich latach w Australii wzrost odsetka koni posiadających przeciwciała przeciwko EHV1 autorzy jednoznacznie wiążą ze wzrostem liczby przypadków ronień, mających miejsce w przebiegu zakażenia typem 1 herpeswirusa.

Wielu autorów wskazuje na wiek zwierzęcia jako czynnik rzutujący na występowanie u koni przeciwciał przeciwko herpeswirusom. Nordengrahn i wsp. (17) oraz Breathnach i wsp. (5) uważają, że zależność ta dotyczy głównie młodych źrebiąt i związana jest z procesem fizjologicznego zaniku przeciwciał matczynych oraz przechorowaniem po raz pierwszy zakażenia powodowanego przez EHV4. Tę opinię autorzy sformułowali w oparciu o wyniki badań serologicznych, przeprowadzonych w grupie źrebiąt w wieku poniżej 4 miesięcy (17). W badaniach własnych nie wykazano natomiast istotnych różnic, dotyczących odsetka zwierząt seropozytywnych, posiadających przeciwciała przeciwko herpeswirusowi typu 4, w grupie wiekowej do dwunastego miesiąca życia, jakkolwiek był on niższy u źrebiąt 5-6 miesięcznych w porównaniu do starszych. Uzyskane wyniki są zgodne z opublikowanymi przez Gilkerson i wsp. (14),

którzy badali występowanie przeciwciał przeciwko EHV1 i EHV4 u klaczy oraz ich potomstwa w wieku od 2 do 6 miesięcy. Odsetek zwierząt seropozytywnych wynosił w grupie klaczy i źrebiąt, odpowiednio, 26,2% i 11,4% w przypadku EHV1 oraz 99-100% w obu grupach w przypadku EHV4. Na tej podstawie autorzy twierdzą, że występowanie prawie u wszystkich badanych zwierząt dodatnich reakcji serologicznych, wskazujących na kontakt z herpeswirusem typu 4 jest zjawiskiem powszechnym, niezależnym od wieku.

Prawdopodobieństwo wystąpienia zakażeń naturalnych w pierwszych miesiącach życia jest większe u źrebiąt pochodzących od klaczy nie immunizowanych niż u tych, których matki były szczepione przed porodem. Breathnach i wsp. (5), którzy wykonywali badania u źrebiąt pochodzących od klaczy szczepionych przeciwko EHV4, wykazali, że do zaniku przeciwciał biernych dochodzi u zwierząt w wieku 6 miesięcy i w tym okresie najczęściej ulegają one zakażeniom naturalnym. Do badań własnych selekcjonowano wyłącznie źrebięta pochodzące od klaczy nie szczepionych, u których zakażenia naturalne miały miejsce wcześniej, tj. około 4. miesiąca życia. Tym faktem tłumaczyć można rozbieżności pomiędzy wynikami badań własnych i opublikowanymi przez Nordengrahn i wsp. (17) i Breathnach i wsp. (5), dotyczące przypuszczalnego wieku źrebiąt, w którym dochodzi do naturalnych zakażeń herpeswirusem typu 4 w okresie fizjologicznego zaniku odporności biernej.

W dostępnym piśmiennictwie brakuje danych na temat występowania swoistych przeciwciał przeciwko EHV4 w surowicy koni starszych, w wieku powyżej 10 lat. Ten fakt może być związany z marginalnym znaczeniem tych wirusów jako potencjalnych czynników chorobotwórczych dla tej grupy wiekowej. Nie można jednak wykluczyć roli takich koni jako źródła zakażenia dla innych zwierząt, przebywających z nimi w bliskim kontakcie.

W analizie wyników badań serologicznych, podobnie jak w ocenie bezpośrednich metod diagnostycznych, należy brać pod uwagę udział czynników dodatkowych, sprzyjających transmisji zarazków i szerzeniu się infekcji. W przypadku zakażeń szerzących się drogą inhalacyjną, do których należą infekcje górnych dróg oddechowych koni wywoływane przez herpeswirusy, oczekiwać można zależności pomiędzy liczebnością zwierząt w środowisku a odsetkiem seroreagentów dodatnich. Materiał do badań własnych pobierano od koni z klubów jeździeckich o niewielkiej obsadzie zwierząt, w których rotacje koni są minimalne, jak również z dużych ośrodków sportowych oraz stadnin hodowlanych, w których często organizowane są krajowe oraz międzynarodowe aukcje, pokazy i zawody. Przeprowadzone badania wykazały statystycznie istotną zależność pomiędzy liczbą zwierząt na fermach i odsetkiem wyników dodatnich w odniesieniu do przeciwciał przeciwko obydwu typom herpeswirusa koni. Podobne wyniki uzyskali Bańbura i wsp. (4), którzy stwierdzili największą liczbę dodatnich seroreagentów, posiadających przeciwciała przeciwko EHV1, wśród koni pochodzących

z ferm o największej obsadzie. Szczególnie wyraźnie zależność ta była widoczna w stadninach, w których konie miały częstszy kontakt ze zwierzętami pochodzącymi z innych obiektów, np. podczas zawodów sportowych, krycia lub w związku z obrotem.

Przeprowadzone badania, obejmujące zróżnicowaną geograficznie, liczebnie i wiekowo populację koni z obszaru południowo-wschodniej Polski dostarczyły nowych danych na temat rozprzestrzenienia zakażeń, wywoływanych przez herpeswirusy (EHV1 i EHV4). Na podstawie wyników tych badań można sądzić, że EHV4 ma znaczący udział w etiologii zakażeń górnych dróg oddechowych koni. Dane piśmiennictwa przytaczają przykłady świadczące o znacznie większym niż dotąd przypuszczano i prawdopodobnie niedocenianym potencjale patogennym EHV4. O'Keefe i wsp. (18) opisali jeden z kilku przypadków zejść śmiertelnych nowonarodzonych źrebiąt na skutek zakażenia tym wirusem i sugerują, że opisywane wcześniej, nie diagnozowane przypadki padnięć źrebiąt mogły mieć związek z zakażeniami powodowanymi przez EHV4. W badaniach wykazano, że w Polsce podobnie jak w innych krajach stopień rozprzestrzenienia zakażeń herpeswirusami EHV4 i EHV1 w populacji koni jest różny. Zakażenia EHV4 występują powszechnie u koni w różnym wieku. Do kontaktu z wirusem dochodzi najprawdopodobniej po raz pierwszy u źrebiąt w okresie zaniku odporności siarowej. Świadczy o tym obecność swoistych przeciwciał u dużego odsetka koni w grupie wiekowej 5-12 miesięcy. W tym okresie poziom przeciwciał matczynych w surowicy praktycznie nie jest już wykrywalny. Występowanie dużej liczby dodatnich seroreagentów wśród koni starszych świadczy natomiast o powtarzających się regularnie reinfekcjach tym wirusem. Próbkę krwi do badań pochodziły od koni z ferm, w których nie wykonywano szczepień przeciwko wirusowemu ronieniu klaczy. Obecność swoistych przeciwciał mogła być zatem wynikiem przechorowania naturalnych zakażeń EHV1, reinfekcji lub reaktywacji wirusa ze stanu latencji, co jest typowe dla infekcji herpeswirusowych u zwierząt i ludzi. W oparciu o uzyskane wyniki można przypuszczać, że tego typu zakażenia miały miejsce najwcześniej u młodych koni w wieku 1-2 lata.

Wykorzystany w badaniach własnych test ELISA jest przydatną metodą do wykrywania oraz różnicowania swoistych przeciwciał dla herpeswirusów koni (EHV4 i EHV1). Z punktu widzenia epizootologicznego istotna jest możliwość monitorowania zakażeń koni typem wirusa odpowiedzialnym za wywoływanie ronień u ciężarnych klaczy, będących przyczyną znacznych strat ekonomicznych (10). Największe ryzyko wystąpienia ronień na tle herpeswirusowym dotyczy klaczy seronegatywnych, narażonych na zakażenie. Wczesna izolacja takich zwierząt w połączeniu z zastosowaniem reżimu sanitarnego oraz ograniczeniem kontaktów z końmi chorymi i podejrzanymi o zakażenie, mają istotne znaczenie w zapobieganiu infekcjom wywoływanym przez herpeswirusy oraz stratom powodowanym przez ronienia. Badania serologiczne, zwłaszcza wykonywane w obiektach, w których nie stosowano szczepień

ochronnych mogą być pomocne w uwalnianiu stad od wirusowego ronienia klaczy (10).

Piśmiennictwo

1. Allen D. A., Bryans J. T.: Molecular epizootiology, pathogenesis and prophylaxis of equine herpesvirus-1 infections. *Progress Vet. Microbiol. Immunol.* 1986, 2, 78-144.
2. Allen G. P.: Epidemic disease caused by Equine herpesvirus-1: recommendations for prevention and control. *Eq. Vet. Education* 2002, 14, 136-142.
3. Bańbura M.: Latencja i związane z latencją transkrypty z zakażeniami herpeswirusem koni typu 1 (EHV1). *Post. Mikrobiol.* 1999, 4, 345-353.
4. Bańbura M., Chmielewska A., Tucholska A., Malicki K.: Występowanie wirusa zakaźnego ronienia klaczy w leukocytach krwi obwodowej koni. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 521-523.
5. Breathnach C. C., Allen G. P., Holland R. E., Conboy H. S., Berry D. B. Jr., Chambers T. M.: Problems associated with vaccination of foals against Equine herpesvirus-4 and the role of anti-EHV4 maternal antibodies, [w:] Wernery U., Wade J. F., Mumford J. A., Kaaden O. R. (red.): *Equine Infectious Diseases*. 8-th Int. Conf., Dubai, R&W Publications, Newmarket 1998, 426-427.
6. Crabb B. S., MacPherson C. M., Reibel G. H., Browning G. F., Studdert M. J., Drummer H. E.: A type-specific serological test to distinguish antibodies to equine herpesviruses 4 and 1. *Arch. Virol.* 1995, 140, 245-258.
7. Crabb B. S., Studdert M. J.: Epitopes of glycoprotein G of equine herpesviruses 4 and 1 located near the C-termini elicit type-specific antibody responses in the natural host. *J. Virol.* 1993, 67, 6332-6338.
8. Crabb B. S., Studdert M. J.: Equine herpesviruses 4 (Equine Rhinopneumonitis Virus) and 1 (Equine Abortion Virus). *Adv. Virus. Res.* 1995, 45, 153-190.
9. Crabb B. S., Studdert M. J.: Equine Rhinopneumonitis (Equine Herpesvirus 4) and Equine Abortion (Equine Herpesvirus 1, [w:] Studdert M. J. (red): *Virus Infections of Equines*. Elsevier Publishing Company, UK 1996, 11-37.
10. Drummer H. E., Reynolds A., Studdert M. J., MacPherson C. M., Crabb B. S.: Application of an equine herpesvirus 1 (EHV1) type-specific ELISA to the management of an outbreak of EHV1 abortion. *Vet. Rec.* 1995, 136, 579-581.
11. Dynon K., Black W. D., Ficorilli N. P., Hartley C. A., Studdert M. J.: Detection of viruses in nasal swab samples from horses with acute, febrile, respiratory disease using virus isolation, polymerase chain reaction and serology. *Aust. Vet. J.* 2007, 85, 46-50.
12. Foote C. E., Gilkerson J. R., Whalley J. M., Love D. N.: Seroprevalence of equine herpesvirus 1 in mares and foals on large Hunter Valley stud farm in years pre- and postvaccination. *Aust. Vet. J.* 2003, 81, 283-288.
13. Gilkerson J. R., Teague N., Whalley J. M., Love D. N.: A prospective cohort study of upper respiratory tract disease in one and two year old racehorses. Serological evaluation of the role of equine herpesviruses 1 and 4 (EHV1 and EHV4) in respiratory tract disease. *Aust. Eq. Vet.* 1999, 17, 76-85.
14. Gilkerson J. R., Whalley J. M., Drummer H. E., Studdert M. J., Love D. N.: Epidemiology of EHV1 and EHV4 in the mare and foal populations on a Hunter Valley Stud farm: are mares the source of EHV1 for unweaned foals. *Vet. Microbiol.* 1999b, 68, 27-34.
15. Hartley C. A., Wilks C. R., Studdert M. J., Gilkerson J. R.: Comparison of antibody detection assays for the diagnosis of equine herpesvirus 1 and 4 infection in horses. *Am. J. Vet. Res.* 2005, 66, 921-928.
16. Matsumura T., Sugiura T., Imagawa H., Fukunaga Y., Kamada M.: Epizootiological aspects of type 1 and type 4 equine herpesvirus infections among horse populations. *J. Vet. Med. Sci.* 1992, 54, 207-211.
17. Nordengrahn A., Merza M., Svedlund G., Roneus M., Berndtsson L. T., Lindholm A., Drummer H. E., Studdert M. J., Abusugra I., Gunnarsson E., Klingeborn B.: A field study of the application of a type-specific test distinguishing antibodies to Equine herpesvirus-4 and -1, [w:] Wernery U., Wade J. F., Mumford J. A., Kaaden O. (red.): *Equine Infectious Diseases*. 8-th Int. Conf., Dubai, R&W Publications, Newmarket 1998, 125-128.
18. O'Keefe J. S., Alley M. R., Jones D., Wilks C. R.: Neonatal mortality due to equine herpesvirus 4 (EHV4) in a foal. *Aust. Vet. J.* 1995, 9, 353-354.
19. Rola J., Zmudziński J.: Herpeswirus koński typ 1 (EHV1) przyczyną poronień u klaczy w Polsce. *Medycyna Wet.* 1997, 53, 268-269.
20. Rola J.: Profile restrykcyjne polskich izolatów herpeswirusa koni typ 1. *Medycyna Wet.* 2000, 56, 813-815.
21. Salva A.: Molekularne aspekty latentnych zakażeń układu nerwowego wywołanych przez herpeswirusy. *Medycyna Wet.* 1998, 54, 725-729.
22. Slater J. D.: Equine herpesviruses, [w:] Sellon D. C., Long M. T. (red.): *Equine Infectious Diseases*, Saunders Elsevier 2007, 134-153.
23. Slater J. D., Borchers K., Field H. J.: Equine herpesvirus-1: a neurotropic alpha-herpesvirus. *Vet. Rec.* 1994, 135, 239-240.
24. Van Maanen C., Heldens J., Cullinane A. A., Van den Hoven R., Weststrate M.: The prevalence of antibodies against equine influenza virus, equine herpesvirus 1 and 4, equine arteritis virus and equine rhinovirus 1 and 2 in Dutch standardbred horses. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 2005, 74, 140-145.
25. Winiarczyk S., Łopuszyński W., Grądzki Z., Michalowska M., Ziętek A.: Ronienie u klaczy na tle zakażenia herpeswirusem końskim typu 1 (EHV1). *Medycyna Wet.* 2004, 60, 400-402.
26. Wood J. L., Newton J. R., Chanter N., Mumford J. A.: Association between respiratory disease and bacterial and viral infections in British racehorses. *J. Clin. Microbiol.* 2005, 43, 120-126.

Adres autora: prof. dr hab. Zbigniew Grądzki, ul. Bursztynowa 15/109, 20-576 Lublin; e-mail: gradzki@up.lublin.pl