Myksomatoza, ciągle groźna choroba wirusowa królików – aktualny stan wiedzy

EWA KWIT, EWELINA BIGORAJ, ARTUR RZEŻUTKA

Zakład Wirusologii Żywności i Środowiska,

Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Otrzymano 27.02.2018

Zaakceptowano 16.04.2018

Kwit E., Bigoraj E., Rzeżutka A.

Myxomatosis, a continually dangerous viral disease of rabbits: current state of knowledge

Summary

Myxomatosis is a highly infectious viral disease of rabbits. Myxoma virus (MYXV) is not pathogenic to other animal species except for rabbits and hares. In Poland, outbreaks of myxomatosis mainly occur on small-scale size rabbit farms in which specific immunoprophylaxis is not carried out. A typical nodular form of the disease is characterized by swelling and large myxomas over the whole body as well as by lung infection which is associated with atypical myxomatosis. However, differences in the virulence of MYXV strains are observed. They arise from a better adaptation of the virus to the rabbit host and they may also be related to the modulation of cellular response by infected animals. In fact, the changes observed in the MYXV genome do not result in the emergence of other novel virus strains than those currently circulating in the rabbit population. In addition, all previously detected strains are characterized by high phylogenetic relatedness.

Keywords: Myxomatosis, myxoma virus, rabbits

Myksomatoza blisko 70 lat obecna jest w populacji królików w Europie i pomimo dostępności szczepionek nadal zbiera śmiertelne żniwo, zwłaszcza w małych, przyzagrodowych hodowlach zwierząt. Obok wirusowej krwotocznej choroby królików (Rabbit Haemorrhagic Disease, RHD) myksomatoza uważana jest za najgroźniejszą chorobę zakaźną zajęczaków. Zgodnie z obowiązującymi przepisami, myksomatoza znajduje się na liście Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE), a w kraju podlega obowiązkowi rejestracji (69). Wirus myksomatozy królików (MYXV) jest jednym z nielicznych czynników biologicznych użytych jako „broń biologiczna”, którą skierowano przeciwko dziko żyjącym królikom (23). Z drugiej strony, jest doskonałym przykładem adaptacji wirusa do organizmu swojego żywiciela.

Występowanie i epidemiologia zakażeń MYXV

Objawy chorobowe charakterystyczne dla myksomatozy po raz pierwszy opisano u królików w 1896 r. w Urugwaju (55), chociaż choroba obecna była w populacji zwierząt już wcześniej (26). Dopiero w 1927 r. dr Henrique de Beaurepaire Aragaõ zidentyfikował czynnik etologiczny choroby, którym był MYXV (3). Z uwagi na wysoką zjadliwość dla królików europejskich (*Oryctolagus cuniculus*) wirus został wprowadzony do populacji tych zwierząt w Australii i Europie

w celu ograniczenia ich liczebności (27). Sprzyjający klimat, niewielka liczba drapieżników, dostępność pożywienia i wysoka plenność królików spowodowały, że gatunek ten w krótkim czasie liczył 600 mln osobników. Populacja królików w Australii była tak ogromna, że porównywano ją do tzw. „szarego koca” przykrywającego kontynent (34). Obecność dużej liczby zwierząt doprowadziła do niekorzystnych zmian w ekosystemie, a króliki uznano za największe szkodniki wśród kręgowców (73). Z uwagi na ich negatywne oddziaływanie już w 1919 r. podjęto próby zakażenia dzikich królików MYXV i tym samym zmniejszenia rosnącej populacji zwierząt (23). Okazało się jednak, że wirus powodował jedynie lokalne epizootie ze względu na małą ilość owadów krwio pijnych biorących udział w jego transmisji, a także na obecność drapieżników, które szybko likwidowały chore zwierzęta, będące źródłem zakażenia dla innych osobników. Dopiero w 1950 r. użycie wysoce zjadliwego szczepu Moses MYXV (Standard Laboratory Strain, SLS) spowodowało wybuch choroby (27), która w ciągu 3 lat objęła swoim zasięgiem obszar całego kontynentu, doprowadzając do masowych upadków zwierząt (35). Obecnie myksomatoza występuje endemicznie w Australii.

Dwa lata po wybuchu epidemii myksomatozy w Australii, w 1952 r. wirus został również celowo sprowadzony do Europy. Pierwsze ognisko myksomatozy opisano

we Francji, a źródłem infekcji były dzikie króliki zakażone szczepem Brazil Campinas/1949 MYXV (Lausanne) wyizolowanym w 1949 r. w Brazylii. Wirus w ciągu kilku lat doprowadził do wyginięcia blisko 90% populacji królików początkowo we Francji (4), a następnie w innych sąsiadujących krajach, jak: Hiszpania, Portugalia, Włochy, Niemcy i Czechosłowacja (27). Ogromne spustoszenie choroba poczyniła także w Wielkiej Brytanii, powodując 99% depopulację dzikich królików. W Polsce pierwsze przypadki myksomatozy odnotowano w 1955 r. na terenie ówczesnych województw poznańskiego i katowickiego (49). W kolejnych latach liczba zachorowań wśród królików w kraju stale wzrastała (31, 43) do momentu wprowadzenia szczepień profilaktycznych. Obecnie choroba występuje przede wszystkim w małych, przyzagrodowych hodowlach, w których nie prowadzi się immunoprofilaktyki. Ponadto, w porównaniu do krajów Europy Zachodniej, w Polsce notuje się mniejszą liczbę ognisk choroby z uwagi na niewielką populację królików dzikich stanowiących naturalny rezerwuuar wirusa (60).

Klasyfikacja szczepów wirusa

MYXV należy do rodziny *Poxviridae*, podrodziny *Chordopoxvirinae*, rodzaju *Leporipoxvirus*. Ze względu na pochodzenie szczepów wirusa wyróżnia się ich dwie grupy, tj. szczepy brazylijskie endemicznie występujące w Europie i Australii oraz kalifornijskie MSW i MSD obecne w Stanach Zjednoczonych i Meksyku. Choć ww. szczepy wirusa nie wywołują ciężkiej choroby wśród królików brazylijskich (*Sylvilagus brasiliensis*) i zaroślowych (*Sylvilagus bachmani*) będących ich pierwotnym rezerwuarem, to dla królików europejskich zakażenie MYXV powoduje wysoce śmiertelną chorobę (27). Oprócz MYXV, do rodzaju *Leporipoxvirus* należy również wirus fibromatozy (SFV) zwany też wirusem włókniaka Shope'a. Pomimo że MYXV i SFV charakteryzuje duże pokrewieństwo antygenowe, a zakażenie SFV daje odporność krzyżową w przypadku infekcji MYXV, to jednak zakażenia SFV u królików europejskich mają charakter łagodny i nie powodują upadków zwierząt. W literaturze opisano także wirusa złośliwej fibromatozy królików (MRV), który powstał w wyniku naturalnej rekombinacji pomiędzy SFV i MYXV (10, 63, 66, 67). Genom MRV wykazuje co najmniej 90% zgodność sekwencji nukleotydów z sekwencją genomu MYXV. Jedynie fragment DNA MRV o wielkości ok. 8 kb, który znajduje się w lewym regionie TIR (Terminal Inverted Repeat) i przyległej do niego sekwencji, a także fragment DNA (4,6 kb) obecny w prawym TIR zostały zastąpione sekwencją homologiczną pochodzącą

Ryc. 1. Schemat organizacji genomu MYXV

Objaśnienia: Nazwy poszczególnych genów oznaczono dużą literą „M” wraz ze wskazaniem kierunku transkrypcji „R” (Right – prawy) lub „L” (Left – lewy). Geny znajdujące się w regionach TIR oznakowano jako „L/R”

z genomu SFV (68). Zrekombinowany szczep wirusa wywołuje chorobę o przebiegu podobnym do myksomatozy z tworzeniem charakterystycznych guzów na skórze, silną immunosupresją i wysoką śmiertelnością wśród zakażonych zwierząt (62, 66).

Organizacja genomu wirusa

MYXV, podobnie jak inne poxwirusy, należy do największych obecnie poznanych wirusów kręgowców. Wiriony o kształcie cegiełkowatym i wymiarach $286 \times 230 \times 75$ nm mają otoczkę, dwuwklesły rdzeń oraz dwa ciała lateralne. Genom wirusa stanowi niesegmentowany, dwuniciowy DNA o wielkości 161,8 kbp. Na jego końcach znajdują się regiony odwróconych sekwencji, tzw. TIR, zakończone strukturą „szpilki”. Genom zawiera 171 genów, z których 12 identycznych znajduje się, odpowiednio, w prawym i lewym TIR (ryc. 1). Centralna część genomu o wielkości 120 kbp zawiera wysoce konserwatywne geny. Geny od M012L do M142R kodują białka strukturalne i funkcjonalne, biorące udział w replikacji wirusa (13). Z kolei końcowe regiony DNA o łącznej wielkości 40 kbp (ok. 15 kbp z lewej i 25 kbp z prawej strony genomu), które obejmują TIR i przyległe sekwencje, zawierają geny obecne tylko u wirusów z rodzaju *Leporipoxvirus*. Warunkują one tropizm wirusa do komórek gospodarza, jego zjadliwość i kodują białka modyfikujące odpowiedź immunologiczną królika (6, 13, 39). Wyciszenie funkcji tych genów może prowadzić do atenuacji wirusa (34). Obecnie znane są pełne sekwencje genomu zaledwie kilkudziesięciu szczepów MYXV, w tym szczepu Lausanne (13), SLS (37), MSW (40) i SFV (71).

MYXV występuje w dwóch formach zakaźnych, tj. w formie dojrzałego wirusa wewnątrzkomórkowego (Intracellular Mature Virion, MV) i zewnątrzkomórkowego wirusa otoczkowego (Extracellular Enveloped Virion, EV) (21, 34). Poszczególne formy wirusa charakteryzują się odmienną budową zewnętrzną. MV ma jedną otoczkę, podczas gdy EV osłania dodatkowa błona lipidowa; stąd też wynikają różnice w sposobie wnikania wirusów do komórki (47). Po adsorpcji wirusa do komórki gospodarza, cząstki MV przedostają się do jej wnętrza na drodze endocytozy bądź fuzji otoczki lipidowej wirusa z błoną komórkową, przy czym mechanizm wnikania zależy od typu komórki oraz szczepu

wirusa (15, 53, 65). Z kolei cząsteczki EV przed fuzją z błoną zakażanej komórki pozbywają się zewnętrznej otoczki (48). Następnie dochodzi do odpłasczenia i uwolnienia rdzenia wirusa do cytoplazmy komórki. Znajdujący się w rdzeniu wirusowy transkryptom zawiera polimerazę RNA i inne czynniki niezbędne w procesie transkrypcji. Ekspresja genów wczesnych zaraz po zakażeniu prowadzi do syntezy tzw. wczesnego mRNA, które koduje enzymy i czynniki niezbędne do syntezy wirusowego DNA, jak również do ekspresji kolejnych klas genów. Taki mechanizm określany jest mianem kaskady, gdyż białka tworzone na tym etapie regulują dalszą ekspresję genów. Po replikacji DNA MYXV następuje tworzenie tzw. późnego mRNA kodującego poszczególne białka wirusa (47). W pierwszym etapie powstają wewnątrzkomórkowe cząsteczki MV, które uwalniane są na drodze lizy komórek. Niektóre z nich ulegają opłasczeniu w aparacie Golgiego, a po fuzji z błoną komórkową dochodzi do ich uwalniania w postaci formy EV wirusa (57). Zarówno cząstki EV, jak i MV są zakaźne, przy czym uważa się, że EV odgrywają kluczową rolę w procesie zakażenia sąsiednich komórek, podczas gdy MV pełnią istotną funkcję w momencie wnikania wirusa do organizmu gospodarza (53).

Patogeneza zakażenia i postacie choroby

Oprócz królików i zająca szaraka (*Lepus europaeus*), MYXV nie jest patogenny dla innych gatunków zwierząt (5, 56, 70). Wirus nie jest również chorobotwórczy dla ludzi, chociaż wykazuje tropizm i właściwości onkolityczne w stosunku do wielu linii komórek nowotworowych człowieka (17, 64, 74). Źródłem MYXV są króliki chore lub jego bezobjawowi nosiciele. Głównym wektorem w przenoszeniu wirusa są owady krwiopijne, które w sposób mechaniczny transportują go na duże odległości. Choroba szerzy się także przez kontakt bezpośredni chorych zwierząt ze zdrowymi, jak również za pośrednictwem paszy i sprzętu (18). Możliwe jest również zakażenie MYXV drogą płciową. Nie obserwuje się pionowej transmisji wirusa, natomiast matki przekazują noworodkom przeciwciała, które przez kilka pierwszych tygodni życia zapewniają im częściową ochronę przed infekcją (29, 59). U królików domowych (58), jak również dzikich (51, 72) do 7. miesiąca po zakażeniu wirusem obserwowano występowanie zjawiska tzw. sire effect polegającego na przekazywaniu odporności potomstwu przez samice kojarzone z samcami ozdrowieńcami. Natomiast nie występowało ono u potomstwa po samcach szczepionych przeciwko myksomatozie lub zakażonych SFV. Mechanizm warunkujący przekazywanie tego typu odporności nie został jeszcze wyjaśniony. Sugeruje się, że długotrwałe utrzymywanie się wirusowego DNA w nasieniu samców, które przechoro-

wały myksomatozę, może prowadzić do nabywania odporności przez młode króliki (51). W przeciwieństwie do samców, DNA MYXV nie wykrywano w jajnikach samic królików, stąd też „sire effect” nie był obserwowany w tej grupie zwierząt (26).

Przebieg choroby zależy od zjadliwości szczepu i dawki zakaźnej wirusa, ale także od wrażliwości osobniczej królików oraz warunków utrzymania zwierząt. Czynnikiem warunkującym efektywną transmisję MYXV jest ilość wirusa obecna w chorobowo zmienionej skórze. Uważa się, że minimalna dawka zakaźna to $10^{7,0}$ pfu/g tkanki (9, 24). Po wstępnej replikacji w komórkach skóry, w miejscu ukłucia owada, wirus przedostaje się do regionalnych węzłów chłonnych, w których się namnaża. Następnie wraz z limfocytami i prawdopodobnie monocytami rozprzestrzenia się po całym organizmie. Cząstki wirusa niezwiązane z komórkami krwi wykrywa się stosunkowo rzadko (8, 28). Na skórze tworzą się charakterystyczne zmiany, tj. guzy myksomatozowe, a także obrzęki, które najczęściej pojawiają się 5. lub 6. dnia po zakażeniu (ryc. 2). Wysokie miano wirusa tj. $> 10^{8,0}$ pfu/g tkanki stwierdza się w zmianach skórnych, jak również w wydalinach i wydzielinach z dróg rodnych, nosa i oczu, a także tkance limfatycznej szczególnie węzłów chłonnych i śledziony. Ponadto MYXV jest obecny w płucach i wątrobie, ale w mniejszej ilości (9). Wirus wykazuje silne działanie immunosupresyjne, predysponując do wystąpienia wtórnych infekcji bakteryjnych lub inwazji pasożytniczych (11).

Poza klasyczną postacią myksomatozy wywołaną przez wysoce zjadliwe szczepy, której rozpoznanie na podstawie objawów klinicznych nie stwarza większych trudności, coraz częściej opisuje się występowanie

Ryc. 2. Przebieg zakażenia i obserwowane zmiany myksomatozowe

w hodowlach królików postaci atypowej (amyksomatozowej) choroby (22, 41, 45, 52). Towarzyszące jej zaburzenia oddechowe są na ogół mylone z zakażeniami bakteryjnymi i nieskutecznie leczone antybiotykami (42). Analiza genetyczna szczepów MYXV wywołujących atypową postać choroby wskazała na ich wysokie podobieństwo do szczepu Lausanne (22, 45) lub atenuowanego szczepu wirusa obecnego w szczepionce stosowanej w Czechach (52). Obecnie jednak nadal nie wiadomo, które zmiany w genomie MYXV doprowadziły do zwiększenia tropizmu wirusa do komórek układu oddechowego i w konsekwencji do wystąpienia atypowej postaci myksomatozy. W badaniach klinicznych dowiedziono bowiem, że w niektórych przypadkach szczepy MYXV wywołujące atypową postać choroby o ostrym przebiegu powodowały u królików laboratoryjnych zakażenia o przebiegu łagodnym (46). Ponadto infekcje bakteryjne mogą wikłać zakażenia wirusowe i przyspieszać przebieg choroby (45).

Zmienność wirusa w kontekście obserwacji klinicznych i analiz filogenetycznych

Długotrwałemu utrzymywaniu się epizootii choroby towarzyszą wielokrotne pasażę szczepów MYXV na wrażliwych zwierzętach, które mogą skutkować pojawianiem się nowych szczepów wirusa o różnym stopniu zjadliwości. Biorąc pod uwagę obserwowane różnice pomiędzy zjadliwością szczepów MYXV, Fenner i Marshall (25) na podstawie wyników prób biologicznych na królikach stworzyli 5-stopniową skalę pozwalającą na ocenę wirulencji szczepów wirusa. W klasyfikacji uwzględniono śmiertelność, jaka wystąpiła po zakażeniu poszczególnymi szczepami MYXV, a także średni czas przeżycia zwierząt (42). W początkowym okresie występowania myksomatozy w Europie i Australii obserwowano wysoki wskaźnik śmiertelności wśród zakażonych zwierząt. W kolejnych latach epizootii pojawiały się szczepy wirusa o niższej zjadliwości, co przy jednoczesnym wzroście naturalnej oporności na zakażenie wśród dzikich królików spowodowało spadek zachorowań (35). Obecnie w populacji dzikich królików dominują szczepy o średnim, III stopniu zjadliwości (27, 35). W przypadku królików hodowlanych, naturalna oporność tych zwierząt jest słabiej wyrażona, co skutkuje wyższą śmiertelnością przy zakażeniu nawet średnio zjadliwymi szczepami wirusa.

Analizy sekwencji nukleotydów fragmentów lub całych genomów krążących szczepów MYXV pozwalają ustalić obecność mutacji, które mogą być odpowiedzialne za ich atenuację, chociaż nie udało się wykazać zmian mogących być podstawą do oceny stopnia zjadliwości szczepów MYXV

(37). Również delecja wybranych fragmentów genów nie skutkowała zmianą zjadliwości szczepów wirusa (32, 61). Odmienność wrażliwości królików na zakażenie może wynikać z różnic w powinowactwie wirusa do limfocytów (9, 39) i modulowania odpowiedzi komórkowej związanej z ekspresją receptorów chemokinowych CCR-5 i CXCR4 w leukocytach (1, 14).

Od momentu pojawienia się MYXV w populacji królików obserwuje się jego ewolucję, która prowadzi do lepszej adaptacji wirusa do organizmu gospodarza. MYXV posiada jeden z najwyższych wskaźników substytucji nukleotydowych (zmian ewolucyjnych) wśród dsDNA wirusów (37). Niemniej jednak wyniki analiz filogenetycznych przeprowadzonych w oparciu o pełne sekwencje genomowe szczepów krążących wśród królików w Europie i Australii wskazują na występowanie różnic w sekwencjach szczepów na tych kontynentach (12, 36, 40). Obserwowane pojedyncze mutacje w genomach szczepów MYXV nie prowadzą do pojawienia się nowych, odmiennych od tych obecnie krążących w populacji królików wariantów wirusa (ryc. 3). Europejskie szczepy MYXV wywodzą się ze szczepu Lausanne, który został wyizolowany z pierwszego ogniska myksomatozy królików w Europie. Z kolei zmiany w sekwencjach szczepów australijskich wskazują na ich pokrewieństwo do szczepu SLS wirusa wprowadzonego do Australii celem zmniejszenia populacji dzikich królików (37).

Ryc. 3. Drzewo filogenetyczne przedstawiające pokrewieństwo szczepów MYXV krążących w populacji królików w Polsce i na świecie, utworzone na podstawie sekwencji nukleotydów genu M036L szczepów MYXV

Objaśnienia: Odcinek skali odpowiada 0,0002 substytucji/nukleotyd. Do konstrukcji drzewa wybrano z bazy GenBank sekwencje nukleotydów szczepów MYXV pochodzące z Brazylii: AF170726.2, JX565574.1, Hiszpanii EU552530.1, Wielkiej Brytanii: JX565572.1, KY548813.1, JX565566.1, Irlandii KY548792.1, Niemiec: KP723388.1, KP723387.1, Polski KP723386.1, Australii: JX565567.1, JX565577.1, JX565569.1, JX565565.1, JX565582.1, JX565564.1, KC660082.1, JX565562.1, JX565571.1, JX565584

Diagnostyka zakażeń

Rozpoznanie myksomatozy królików przebiegającej w postaci klasycznej w większości przypadków nie jest trudna, w przeciwieństwie do zakażeń powodowanych przez szczepy wirusa o niskiej zjadliwości bądź też szczepy, które odpowiedzialne są za atypową postać choroby. Wówczas ze względu na niespecyficzne objawy kliniczne niezbędne jest stosowanie metod laboratoryjnych. Diagnostyka myksomatozy opiera się głównie na bezpośredniej identyfikacji wirusa lub wykrywaniu antygeny wirusowego w materiale biologicznym. W tym celu stosuje się szereg klasycznych metod wirusologicznych, m.in.: mikroskopię elektronową, badanie histopatologiczne wycinków skóry i tkanki podskórnej oraz wykonuje się izolację wirusa w liniach ciągłych hodowli komórek nerki (RK₁₃) lub rogówki oka (SIRC) królika. W badanym materiale antygen wirusowy może być również wykrywany przy użyciu testu immunodyfuzji w żelu agarowym (AGID), w którym obserwuje się tworzenie prążków lub linii precipitacyjnych w miejscu powstawania kompleksów antygen-przeciwciało. Wykorzystuje się również metodę immunofluorescencji bezpośredniej lub pośredniej. Ze względu na powszechnie stosowaną immunoprofilaktykę swoistą mniejsze znaczenie w rozpoznawaniu zakażeń mają testy serologiczne umożliwiające wykazanie obecności przeciwciał anti-MYXV we krwi zwierząt. Obecnie metody serologiczne, jak np. ELISA stosuje się tylko w ograniczonym zakresie do identyfikacji zakażeń lub oceny skuteczności szczepień profilaktycznych (30, 33, 44). Biorąc pod uwagę fakt częstego występowania zakażeń MYXV u królików, a także trudności diagnostyczne związane z atypową postacią choroby do diagnostyki laboratoryjnej zakażeń zostały wprowadzone metody molekularne (50). Podstawowym narzędziem są techniki umożliwiające amplifikację fragmentów genomowego DNA wirusa, jak metoda PCR (16) i real-time PCR (2, 7, 20). Niewątpliwą zaletą PCR jest również uniwersalność metody polegająca na możliwości badania różnego rodzaju chorobowo zmienionych tkanek, wymazów i płynów ustrojowych, np. w przypadku badania nasienia samców. Metody molekularne są szczególnie pomocne przy diagnostyce zakażeń królików szczepami MYXV o niskiej zjadliwości lub wywołującymi atypową postać choroby przy mało specyficznych objawach klinicznych. Wówczas techniki molekularne pozwalają na szybkie postawienie rozpoznania i na podjęcie stosownych działań zmierzających do ograniczenia rozprzestrzeniania się wirusa w stadzie. Ponadto umożliwiają one różnicowanie szczepów zjadliwych od atenuowanych szczepionkowych, a przez to rozpoznawanie przypadków myksomatozy poszczepiennej, eliminując tym potrzebę używania zwierząt doświadczalnych (16). Dotychczas doświadczalne zakażenie królików laboratoryjnych było jedyną metodą pozwalającą ocenić stopień zjadliwości szczepów MYXV. Badania *in vivo* próbuje się zastąpić badaniami *in vitro*, w których poszukuje się

swoistych markerów zjadliwości wirusa. Podejmowano próby zastosowania analizy polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych powielanych fragmentów wirusowego DNA, niemniej jednak nie znaleziono wyraźnej korelacji pomiędzy profilem restrykcyjnym DNA badanego szczepu a jego zjadliwością (19, 38, 54).

Zmienność wirusów obejmuje zjawiska przesunięcia i skoku antygenowego, które prowadzą do pojawienia się nowych cech fenotypowych drobnoustrojów. Wpływa to na zwiększenie zjadliwości szczepów, ich atenuację lub adaptację do nowych gospodarzy. Te cechy obserwuje się wśród szczepów MYXV, które w wyniku naturalnych, wielokrotnych pasażów na wrażliwych zwierzętach stały się w różnym stopniu zjadliwe dla swoich gospodarzy. O ich obecności może świadczyć dłuższy niż do tej pory opisywano przebieg zakażeń i pojawienie się nowej klinicznej postaci choroby. Obecnie nie znamy wszystkich właściwości wirusa, chociaż obserwowano jego immunosupresyjne oddziaływanie i zdolność niszczenia komórek nowotworowych człowieka, a także stymulację produkcji substancji immunoregulatorowych hamujących proces zapalny towarzyszący wielu chorobom z autoagresji.

Piśmiennictwo

1. Abrantes J., Esteves P. J., Carmo C. R., Müller A., Thompson G., van der Loo W.: Genetic characterization of the chemokine receptor CXCR4 gene in lagomorphs: comparison between the families Ochotonidae and Leporidae. *Int. J. Immunogenet.* 2008, 35, 111-117.
2. Albin S., Sigrist B., Güttinger R., Schelling C., Hoop R. K., Vöglin A.: Development and validation of a myxoma virus real-time polymerase chain reaction assay. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012, 24, 135-137.
3. Aragão H. B.: Myxoma of rabbits. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1927, 20, 237-247.
4. Arthur C. P., Louzis C.: A review of myxomatosis among rabbits in France. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 1988, 7, 959-976.
5. Barlow A., Lawrence K., Everest D., Dastjerdi A., Finnegan C., Steinbach F.: Confirmation of myxomatosis in a European brown hare in Great Britain. *Vet. Rec.* 2014, 175, 75-76.
6. Barrett J. W., Cao J. X., Hota-Mitchell S., McFadden G.: Immunomodulatory proteins of myxoma virus. *Semin. Immunol.* 2001, 13, 73-84.
7. Belsham G. J., Polacek C., Breum S. O., Larsen L. E., Botner A.: Detection of myxoma viruses encoding a defective M135R gene from clinical cases of myxomatosis; possible implications for the role of the M135R protein as a virulence factor. *Virol. J.* 2010, 7, 7-17.
8. Best S. M., Collins S. V., Kerr P. J.: Coevolution of host and virus: cellular localization of virus in myxoma virus infection of resistant and susceptible European rabbits. *Virology* 2000, 277, 76-91.
9. Best S. M., Kerr P. J.: Coevolution of host and virus: the pathogenesis of virulent and attenuated strains of myxoma virus in resistant and susceptible European rabbits. *Virology* 2000, 267, 36-48.
10. Block W., Upton C., McFadden G.: Tumorigenic poxviruses: genomic organization of malignant rabbit virus, a recombinant between Shope fibroma virus and myxoma virus. *Virology* 1985, 140, 113-124.
11. Boag B.: Observations on the seasonal incidence of myxomatosis and its interactions with helminth parasites in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *J. Wildl. Dis.* 1988, 24, 450-455.
12. Braun C., Thürmer A., Daniel R., Schultz A. K., Bulla I., Schirmer H., Mayer D., Neubert A., Czerny C. P.: Genetic variability of myxoma virus genomes. *J. Virol.* 2017, 91, e01570-16.
13. Cameron C., Hota-Mitchell S., Chen L., Barrett J., Cao J. X., Macaulay C., Willer D., Evans D., McFadden G.: The complete DNA sequence of myxoma virus. *Virology* 1999, 264, 298-318.
14. Carmo C. R., Esteves P. J., Ferrand N., van der Loo W.: Genetic variation at chemokine receptor CCR5 in leporids: alteration at the 2nd extracellular domain by gene conversion with CCR2 in *Oryctolagus*, but not in *Sylvilagus* and *Lepus* species. *Immunogenetics* 2006, 58, 494-501.
15. Carter G. C., Law M., Hollinshead M., Smith G. L.: Entry of the vaccinia virus intracellular mature virion and its interactions with glycosaminoglycans. *J. Gen. Virol.* 2005, 86, 1279-1290.
16. Cavadini P., Botti G., Barbieri I., Lavazza A., Capucci L.: Molecular characterization of SG33 and Borghi vaccines used against myxomatosis. *Vaccine* 2010, 28, 5414-5420.

17. Chan W. M., Rahman M. M., McFadden G.: Oncolytic myxoma virus: the path to clinic. *Vaccine* 2013, 31, 4252-4258.
18. Chapuis J. L., Chantal J., Bijlenga G.: Myxomatosis in the sub-antarctic islands of Kerguelen, without vectors, thirty years after its introduction. *C R Acad. Sci. III* 1994, 317, 174-182.
19. Dalton K. P., Ringleb F., Martín Alonso J. M., Parra F.: Rapid identification of myxoma virus variants by long-range PCR and restriction fragment length polymorphism analysis. *J. Virol. Methods* 2009, 161, 284-248.
20. Duarte M. D., Barros S. C., Henriques A. M., Fagulha M. T., Ramos F., Luís T., Fevereiro M.: Development and validation of a real time PCR for the detection of myxoma virus based on the diploid gene M000.5L/R. *J. Virol. Methods* 2014, 196, 219-224.
21. Duteyrat J. L., Gelfi J., Bertagnoli S.: Ultrastructural study of myxoma virus morphogenesis. *Arch. Virol.* 2007, 151, 2160-2180.
22. Farsang A., Makranszki L., Dobos-Kovács M., Virág G., Fábrián K., Barna T., Kulcsár G., Kucsera L., Vetési F.: Occurrence of atypical myxomatosis in Central Europe: clinical and virological examinations. *Acta Vet. Hung.* 2003, 51, 493-501.
23. Fenner F.: Deliberate introduction of the European rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, into Australia. *Rev. Sci. Tech.* 2010, 29, 103-111.
24. Fenner F.: Evolutionary aspects of myxomatosis in Australia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1956, 54, 271-278.
25. Fenner F., Marshall I. D.: A comparison of the virulence for European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) of strains of myxoma virus recovered in the field in Australia, Europe and America. *J. Hyg. (Lond.)* 1957, 55, 149-191.
26. Fenner F., Ratcliffe F. N.: Myxomatosis. Cambridge University Press, Cambridge 1965.
27. Fenner F., Ross J.: Myxomatosis, [w:] Thompson H. V., King C. M. (ed.): The European rabbit. The history and biology of a successful colonizer. Oxford University Press, Oxford 1994, 205-240.
28. Fenner F., Woodroffe G. M.: The pathogenesis of infectious myxomatosis; the mechanism of infection and the immunological response in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Br. J. Exp. Pathol.* 1953, 34, 400-411.
29. Fouchet D., Marchandeau S., Langlais M., Pontier D.: Waning of maternal immunity and the impact of diseases: the example of myxomatosis in natural rabbit populations. *J. Theor. Biol.* 2006, 242, 81-89.
30. Gelfi J., Chantal J., Phong T. T., Py R., Boucraut-Baralon C.: Development of an ELISA for detection of myxoma virus-specific rabbit antibodies: test evaluation for diagnostic applications on vaccinated and wild rabbit sera. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1999, 11, 240-245.
31. Górski J., Mizak B., Chrobocińska M.: Control of rabbit myxomatosis in Poland. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.* 1994, 13, 869-879.
32. Johnston J. B., McFadden G.: Technical knockout: understanding poxvirus pathogenesis by selectively deleting viral immunomodulatory genes. *Cell. Microbiol.* 2004, 6, 695-705.
33. Kerr P. J.: An ELISA for epidemiological studies of myxomatosis: persistence of antibodies to myxoma virus in European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Wild. Res.* 1997, 24, 53-65.
34. Kerr P. J.: Myxomatosis in Australia and Europe: a model for emerging infectious diseases. *Antiviral Res.* 2012, 93, 387-415.
35. Kerr P. J., Best S. M.: Myxoma virus in rabbits. *Rev. Sci. Tech.* 1998, 17, 256-268.
36. Kerr P. J., Cattadori I. M., Rogers M. B., Fitch A., Geber A., Liu J., Sim D. G., Boag B., Eden J. S., Ghedin E., Read A. F., Holmes E. C.: Genomic and phenotypic characterization of myxoma virus from Great Britain reveals multiple evolutionary pathways distinct from those in Australia. *PLoS Pathog.* 2017, 13, e1006252.
37. Kerr P. J., Ghedin E., DePasse J. V., Fitch A., Cattadori I. M., Hudson P. J., Tschärke D. C., Read A. F., Holmes E. C.: Evolutionary history and attenuation of myxoma virus on two continents. *PLoS Pathog.* 2012, 8, e1002950.
38. Kerr P. J., Hone J., Perrin L., French N., Williams C. K.: Molecular and serological analysis of the epidemiology of myxoma virus in rabbits. *Vet. Microbiol.* 2010, 143, 167-178.
39. Kerr P. J., McFadden G.: Immune response to myxoma virus. *Viral Immunol.* 2002, 15, 229-246.
40. Kerr P. J., Rogers M. B., Fitch A., Depasse J. V., Cattadori I. M., Hudson P. J., Tschärke D. C., Holmes E. C., Ghedin E.: Comparative analysis of the complete genome sequence of the California MSW strain of myxoma virus reveals potential host adaptations. *J. Virol.* 2013, 87, 12080-12089.
41. Kopczewski A., Sroka A.: Myksomatoza i wirusowa krwotoczna choroba królików. *Magazyn Wet.* 2007, 12, 66-68.
42. Kwit E., Chrobocińska M., Bigoraj E.: Myksomatoza królików, problem nadal aktualny. *Życie Wet.* 2011, 86, 956-960.
43. Lis H., Grudziński J.: Sytuacja epizootyczna myksomatozy królików w Polsce w latach 1975-1984. *Życie Wet.* 1985, 60, 152-156.
44. Marlier D., Herbots J., Detilleux J., Lemaire M., Thiry E., Vindevogel H.: Cross-sectional study of the association between pathological conditions and myxoma-virus seroprevalence in intensive rabbit farms in Europe. *Prev. Vet. Med.* 2001, 48, 55-64.
45. Marlier D., Mainil J., Linde A., Vindevogel H.: Infectious agents associated with rabbit pneumonia: isolation of amyxomatous myxoma virus strains. *Vet. J.* 2000, 159, 171-178.
46. Marlier D., Mainil J., Sulon J., Beckers J. F., Linden A., Vindevogel H.: Study of the virulence of five strains of amyxomatous myxoma virus in crossbred New Zealand White/Californian conventional rabbits, with evidence of long-term testicular infection in recovered animals. *J. Comp. Pathol.* 2000, 122, 101-113.
47. Moss B.: Poxviridae, [w:] Knipe D. M., Howley P. M. (ed.): *Fields Virology*. Philadelphia 2013, s. 2129-2160.
48. Moss B.: Poxvirus entry and membrane fusion. *Virology* 2006, 344, 48-54.
49. Nieć L.: Myksomatoza królików. *Doniesienia o pierwszych przypadkach w Polsce. Med. Weter.* 1956, 8, 464-469.
50. OIE 2017. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Chapter 2.6.1. Myxomatosis.
51. Parer I., Sobey W. R., Conolly D., Morton R.: Sire transmission of acquired resistance to myxomatosis. *Aust. J. Zool.* 1995, 43, 459-465.
52. Pšikal I., Smíd B., Rodák L., Valíček L., Bendová J.: Atypical myxomatosis-virus isolation, experimental infection of rabbits and restriction endonuclease analysis of the isolate. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 2003, 50, 259-264.
53. Roberts K. L., Smith G. L.: Vaccinia virus morphogenesis and dissemination. *Trends Microbiol.* 2008, 16, 472-479.
54. Saint K. M., French N., Kerr P.: Genetic variation in Australian isolates of myxoma virus: an evolutionary and epidemiological study. *Arch. Virol.* 2001, 146, 1105-1123.
55. Sanarelli G.: Das myxomatogene virus. Beitrag zum stadium der krankheitserreger ausserhalb des sichtbaren. *Zbl. Bakt.* 1898, 23, 865-873.
56. Silvers L., Barnard D., Knowlton F., Inglis B., Labudovic A., Holland M. K., Janssens P. A., van Leeuwen B. A., Kerr P. J.: Host-specificity of myxoma virus: pathogenesis of South American and North American strains of myxoma virus in two North American lagomorph species. *Vet. Microbiol.* 2010, 141, 289-300.
57. Smith G. L., Law M.: The exit of vaccinia virus from infected cells. *Virus Res.* 2004, 106, 189-197.
58. Sobey W. R., Conolly D.: Myxomatosis: non-genetic aspects of resistance to myxomatosis in rabbits, *Oryctolagus cuniculus*. *Aust. Wild. Res.* 1986, 13, 177-187.
59. Sobey W. R., Conolly D.: Myxomatosis: passive immunity in the offspring of immune rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) infested with fleas (*Spilopsyllus cuniculi* Dale) and exposed to myxoma virus. *J. Hyg. (Lond.)* 1975, 74, 43-55.
60. Solarz W.: Dzikie królik (*Oryctolagus cuniculus*), [w:] *Gatunki obce w faunie Polski*. Instytut Ochrony Przyrody PAN, Kraków 2011.
61. Stanford M. M., Werden S. J., McFadden G.: Myxoma virus in the European rabbit: interactions between the virus and its susceptible host. *Vet. Res.* 2007, 38, 299-318.
62. Strayer D. S., Laybourn K. A., Heard H. K.: Determinants of the ability of malignant fibroma virus to induce immune dysfunction and tumor dissemination in vivo. *Microb. Pathog.* 1990, 9, 173-189.
63. Strayer D. S., Skaletsky E., Cabirac G. F., Sharp P. A., Corbeil L. B., Sell S., Leibowitz J. L.: Malignant rabbit fibroma virus causes secondary immunosuppression in rabbits. *J. Immunol.* 1983, 130, 399-404.
64. Sypula J., Wang F., Ma Y., Bell J., McFadden G.: Myxoma virus tropism in human tumor cells. *Gene Ther. Mol. Biol.* 2004, 8, 103-114.
65. Townsley A. C., Weisberg A. S., Wagenaar T. R., Moss B.: Vaccinia virus entry into cells via a low-pH-dependent endosomal pathway. *J. Virol.* 2006, 80, 8899-8908.
66. Upton C., Macen J. L., Maranchuk R. A., Delange A. M., McFadden G.: Tumorigenic poxviruses: fine analysis of the recombination junctions in malignant rabbit fibroma virus a recombinant between Shope fibroma virus and myxoma virus. *Virology* 1988, 166, 229-239.
67. Upton C., Macen J. L., Wishart D. S., McFadden G.: Myxoma virus and malignant rabbit fibroma virus encode a serpin-like protein important for viral virulence. *Virology* 1990, 179, 618-631.
68. Upton C., McFadden G.: Tumorigenic poxviruses: analysis of viral DNA sequences implicated in the tumorigenicity of Shope fibroma virus and malignant rabbit virus. *Virology* 1986, 152, 308-321.
69. Ustawa z dnia 11 marca 2004 r. o ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt – z późn. zm. *Dz. U.* 2017, poz. 1855.
70. Whitty B. T.: Myxomatosis in the common hare. *Irish Vet. J.* 1955, 9, 267.
71. Willer D. O., McFadden G., Evans D. H.: The complete genome sequence of Shope (rabbit) fibroma virus. *Virology* 1999, 264, 319-343.
72. Williams C. K., Moore R. J.: Inheritance of acquired immunity to myxomatosis. *Aust. J. Zool.* 1991, 39, 307-311.
73. Williams K., Parer I., Coman B., Burley J., Braysher M.: Managing Vertebrate Pests: Rabbits. Bureau of Resource Sciences. Australian Government Publishing Services, Canberra 1995.
74. Wu Y., Lun X., Zhou H., Wang L., Sun B., Bell J. C., Barrett J. W., McFadden G., Biegel J. A., Senger D. L., Forsyth P. A.: Oncolytic efficacy of recombinant vesicular stomatitis virus and myxoma virus in experimental models of rhabdoid tumors. *Clin. Cancer Res.* 2008, 14, 1218-1227.

Adres autora: dr Ewa Kwit, Al. Partyzantów 57, 24-100 Pulawy; e-mail: ewa.kwit@piwet.pulawy.pl