

MEDYCYNĄ WETERYNARYJNA

ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

CZASOPISMO POSWIĘCONE NAUCE I PRAKTYCE WETERYNARYJNEJ
ZAŁOŻONE W 1945 R. PRZEZ WYDZIAŁ WETERYNARYJNY W LUBLINIE

REDAKCJA

Redaktor naczelny: prof. dr Edmund PROST

Członkowie Komitetu Redakcyjnego: prof. dr Ryszard BADURA,
prof. dr Jerzy MAZURCZAK, prof. dr Stanisław WOŁOSZYN

Sekretarz naukowy: dr Elżbieta PEŁCZYŃSKA

RADA PROGRAMOWA

Dr Anatol BACHAREWICZ, prof. dr Henryk BALBIERZ, prof. dr Władysław BIELAŃSKI, prof. dr Stanisław CAKAŁA, prof. dr Zygmunt EWY, doc. dr Stefan JAKUBOWSKI, prof. dr Lech JASKOWSKI, prof. dr Stefan KOSSAKOWSKI, prof. dr Tadeusz KRZYMOWSKI, prof. dr Zdzisław LARSKI, dyr. dr Henryk LIS, doc. dr Władysław LUTYŃSKI, prof. dr Edward PINKIEWICZ, prof. dr Zbigniew SAMBORSKI, prof. dr Wiktor STEFANIAK, prof. dr Abdon STRYSZAK, prof. dr Eustachy SZELIGOWSKI, doc. dr Krzysztof SWIEŻYŃSKI, prof. dr Marian TRUSZCZYŃSKI, prof. dr Janusz WELENTO, prof. dr Eugeniusz ŻARNOWSKI

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZDZISŁAW LARSKI
Olsztyn

Wirusy niekonwencjonalne i wiroidy

Terminu „wirusy niekonwencjonalne” użył prof. dr D. C. Gajdusek w uroczystym wykładzie (3) wygłoszonym w Sztokholmie w 1976 r. z okazji otrzymania nagrody Nobla w zakresie medycyny za osiągnięcia w badaniach nad wirusami odmiennymi pod wieloma względami od zwykłych, „konwencjonalnych” wirusów. Od tych ostatnich różnią się też wiroidy będące najmniejszymi poznanymi dotąd, subwirusowymi czynnikami zakaźnymi.

Wirusy niekonwencjonalne

Odkrycie tych zarazków wiąże się ściśle z badaniami nad chorobą kuru, występującą na pewnych obszarach w Nowej Gwinei, a przenoszącą się przez rytualny akt kanibalizmu (zjadanie ciał, szczególnie mózgow, zmarłych krewnych). Wyjaśnienie etiologii tej choroby jest zasługą Gajduska.

Wirusy niekonwencjonalne wywołują cztery choroby, dwie u ludzi: kuru i CJD (Creutzfeldt-Jacob disease — choroba Creutzfeldta-Jacoba, *dementia presenilis*, *pseudosclerosis*), oraz dwie u zwierząt: trzęsawkę (scrapie) owiec i kóz oraz encefalopatię nerek — TME (transmissible encephalopathy).

Badanie czynników etiologicznych tych chorób jest niezwykle trudne ponieważ nawet po sztucznym zakażeniu okres inkubacji wynosi od kilku miesięcy do 8 i pół roku (5). Znaczny sukces stanowiła adaptacja do myszy wirusa trzęsawki owiec — dzięki badaniom tego mo-

Tab. 1. Atypowe właściwości wirusów niekonwencjonalnych (3—5, układ zmieniony)

Właściwości fizyczne i chemiczne

Brak w obrazie elektrono-mikroskopowym wirionów i ich elementów strukturalnych (genomu, płaszczka białkowego), stwierdza się tylko błony cytoplazmatyczne

Nie wykazano obcych białek

Nie wykazano kwasu nukleinowego

Oporność na: formaldehyd, beta-propiolakton, EDTA, proteazy (trypsynę i pepsynę), nukleazy, wysoką temperaturę (niezupełna inaktywacja w 100°C), promieniowanie UV przy 254 nm (inaktywacja przy 237 nm), promieniowanie jonizujące (gamma), ultradźwięki

Właściwości biologiczne

Brak efektu cytopatycznego w zakażonych komórkach *in vitro*

Nie wykazują właściwości antygenowych

Nie indukują powstawania interferonu i nie są wrażliwe na interferon

Nie powodują zjawiska interferencji (wobec ponad 30 różnych wirusów)

Długi okres inkubacji choroby (miesiące, lata, nawet dziesiątki lat)

Brak odczynu zapalnego

Zmiany patologiczne o charakterze przewlekłym postępującym (zakażenie powolne); zmiany histopatologiczne o charakterze zwyrodnieniowym

Brak wpływu immunosupresji i immunopotentacji na rozwój i przebieg choroby

delowego czynnika zakaźnego uzyskano dużą ilość informacji. Właściwości wirusów niekonwencjonalnych zawierają tab. 1 i 2. Najbardziej charakterystyczne i odróżniające je od klasycznych wirusów są ich cechy fizyczne i chemiczne — brak upostaciowanych wirionów i ich struktur w obrazie elektrono-mikroskopowym, niemożność wykazania zakaźnego kwasu nukleinowego ani obcego białka, oporność na proteazy, nukleazy, wysoką temperaturę, formaldehyd i na promieniowanie UV o długości fali niszczącej normalne wirusy. Gajdusek (3, 4) podkreśla, że to ostatnie nie może stanowić dowodu, że u wirusów niekonwencjonalnych nie ma informacji genetycznej w postaci kwasu nukleinowego, ponieważ najmniejsze cząstki zakaźne — wiroidy, będące kwasem rybonukleinowym wykazują podobną oporność na promieniowanie ultrafioletowe w surowym soku roślinnym.

Tab. 2. Klasyczne wirusowe cechy wirusów niekonwencjonalnych (3—5, układ zmieniony)

Przechodzą przez sączki o średnicy porów 25 nm (wirusy trzęsawki i encefalopatii nerek); 100 nm (wirusy choroby kuru i CJD)
Namnażają się <i>in vitro</i> w hodowlach komórek
Indukują fuzję komórek <i>in vitro</i> i <i>in vivo</i>
Występuje faza eklipsy
Najpierw namnażają się w śledzionie i innych miejscach układu śródbłonkowo-siateczkowego, później w mózgu, gdzie osiągają stężenie 10^8 — 10^{12} /g
Charakterystyczny zasięg wrażliwych gospodarzy „Adaptacja” do nowych gospodarzy (skrócony okres inkubacji)
Genetyczne uwarunkowania wrażliwości u niektórych gatunków (owce i myszy w przypadku trzęsawki)
Klonalna (metodą rozcieńczeń granicznych) selekcja szczepów z macierzystego materiału

Niemożność stwierdzenia obecności wirionów wirusów niekonwencjonalnych nasunęła przypuszczenie, że być może są one samoreplikującymi się fragmentami błon komórkowych. Przemawia za tym inaktywujące działanie preparatów niszczących błony, wymienionych w tab. 3. Stosowanie tych środków oraz przestrzeganie szczegółowych zaleceń (6) umożliwia bezpieczną pracę z materiałem zakaźnym.

Wirusy niekonwencjonalne należą do wirusów powolnych, omówionych w innej pracy (9), jednak różnią się od pozostałych wywołu-

Tab. 3. Metody inaktywacji wirusów niekonwencjonalnych (3—6)

Autoklawowanie (121°C, 1 atm., 60 min.)
Podchloryn sodu (5%)
Fenol (90%)
Lizol (5%)
Alkoholowy roztwór jodu i jodofory
Eter
Aceton
Chloroform lub chloroform z butanolem
Silne detergenty
Nadjodan (0,01 M)
Nadmanganian potasu (0,03%)
2-chloroetanol
Mocznik (6 M)

jących schorzenia ośrodkowego układu nerwowego, zarówno podanymi już atypowymi cechami, jak też tym, że w przebiegu zakażenia nie następuje zaatakowanie układu immunologicznego, brak też odczynów zapalnych. Zakażenie wywołane przez wirusy niekonwencjonalne są to podostre gąbczaste encefalopatie, zawsze kończące się śmiercią.

Kuru (w języku mieszkańców Nowej Gwinei słowo to oznacza „trzęsienie się”) jest chorobą, która po okresie inkubacji od 4 i pół roku do ponad 30 lat wyraża się klinicznie ataksją mózdkową, drżeniem prowadzącym w czasie nie dłuższym niż jeden rok do zupełnej niezdolności ruchowej i śmierci.

Choroba Creutzfeldta-Jacoba (CJD) występuje na całym świecie, zwykle sporadycznie (jeden do dwu przypadków na milion), lecz w Izraelu (8) i w południowo-wschodniej Słowacji (10) stwierdzono znacznie większą zapadalność. Oprócz otępienia występują poważne zaburzenia neurologiczne, prowadzące w ciągu około dwu lat do śmierci.

Trzęsawka owiec i kóz występuje w Europie, Ameryce i Azji — aspekty epizootologiczne przedstawił ostatnio Truszczyński (12). Objawy i zmiany histopatologiczne są bardzo podobne do choroby kuru, często pojawia się ponadto silny świąd skóry.

Encefalopatia nerek wykazuje podobieństwa patologiczne i kliniczne z trzęsawką owiec.

Rozważając przypuszczalną historię naturalną czterech wymienionych chorób Gajdusek (3, 4) podaje jako bardzo prawdopodobną możliwość, że wywołujące je wirusy są szczepami jednego wirusa, zmodyfikowanymi w różnych gospodarzach (brak właściwości antygenowych uniemożliwia jednak przeprowadzenie dowodu). Wyjściowym, macierzystym miałyby być wirus trzęsawki owiec, który przenosi się na kozy (trzęsawka kóz).

Karmienie nerek mięsem owiec padłych na tę chorobę powoduje zakażenie w postaci encefalopatii, mogące się następnie szerzyć przez gryzienie się zwierząt.

Również zakażenie ludzi prowadzące do choroby CJD następować może, zdaniem Gajduska, od chorych owiec (zoonoza) wskutek spożywania mięsa a także w rzeźniach. Na poparcie tego przytacza dane, że w Izraelu u Żydów pochodzących z Libii, częstość zachorowania na CJD jest trzydzieści razy większa niż u pochodzących z Europy. U tych pierwszych w zwyczaju jest spożywanie gałek ocznych i mózgow owiec (gotowanie nie zabija wirusa), natomiast u Żydów z Europy nie jest to praktykowane. Wirus może się następnie przenosić z człowieka na człowieka. Gajdusek podaje takie sprawdzone przypadki przeniesienia przez przeszczep rogówki, przez użycie implantowanych elektrod, poddanych działaniu formaldehydu (wirus jest odporny na ten związek). Stwierdza się też częstsze przypadki CJD u neurochirurgów i neuropatologów wykonują-

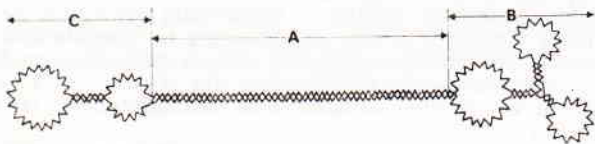
cych sekcję mózgu, stąd ostrzeżenie przed używaniem zwłok ludzi zmarłych wskutek CJD do ćwiczeń prosektoryjnych (6), oraz u osób poddawanych zabiegom neurochirurgicznym. Choroba kuru miałyby być następstwem przeniesienia się zakażenia przez kanibalizm.

Szczegółowe omówienie wirusów niekonwencjonalnych oraz wywoływanych przez nie chorób ludzi i zwierząt zawierają prace przeglądowe Gajduska i wsp. (3—6).

Wiroidy

Do niedawna za najmniejsze czynniki zakażne uważano wirusy. Ich głównymi składnikami są kwasy nukleinowe (RNA lub DNA) i białka. W trakcie badania etiologii wrzecionowatości bulw ziemniaków, choroby roślin uważanej za wirusową, okazało się, że wywołuje ją czynnik subwirusowy — wolny kwas rybonukleinowy (RNA), nagi, nie posiadający płaszcza białkowego. Stwierdził to w 1971 r. Diener (1) i on też wprowadził termin wiroid (czyli „wirusopodobny”).

Szczegółowe badania wielu autorów dostarczyły danych dotyczących niektórych właściwości wiroidów — dotychczas wykryto sześć takich czynników zakaźnych u roślin. Współczesny stan wiedzy w tej dziedzinie przedstawił ostatnio Diener (2). Wiroid jest wolnym RNA o ciężarze drobinowym około 100 000 a więc około 20 razy mniejszym niż ciężar kwasów nukleinowych najmniejszych wirusów.



Ryc. 1. Schemat wtórnej struktury wiroidu oparty na danych Henco'a i wsp. (wg 7); środkową, bardziej sztywną część (A) stanowi helikalny podwójny łańcuch drobin RNA a dwie elastyczniejsze części (B i C) zbudowane są głównie z pojedynczego łańcucha RNA

Ryc. 1. przedstawia przypuszczalną wtórną strukturę wiroidu. Unikalna kolistość układu RNA powoduje, że dostępnymi metodami chemicznymi i biochemicznymi nie można wykazać grup końcowych drobin (13). Po dostaniu się do komórki wiroid wędruje, w sposób dotąd nieznan, do jądra i tam ulega namnożeniu. Ponieważ ilość informacji genetycznej wiroidu jest za mała, przyjmuje się, że jego replikacja jest uzależniona całkowicie od już istniejących (lecz być może ulegających aktywacji) enzymów komórki. Nie poznano dotąd istoty chorobotwórczego działania wiroidów, brak jest dowodów na hamowanie przez nie metabolizmu gospodarza, wykazano natomiast występowanie w zakażonych komórkach większej ilości pewnych normalnych białek niż w tkance zdrowej i być może te odchylenia w ich

syntezie są czynnikiem patogenetycznym. Zdaniem Sängera i Grossa (13) kwas nukleinowy wiroidu nie musi kodować syntezy białek a tylko ulegać replikacji i działać chorobotwórczo przez swą obecność w komórce.

Nie znane jest pochodzenie wiroidów. Cytowane przez Dienera (2) badania Hadidi'ego i wsp. sugerują, że wiroidy mogą brać swój początek z genetycznego materiału gospodarza, co stanowi analogię do teorii onkogenowej onkornawirusów zwierzęcych, zakładającej istnienie genu nowotworowego wbudowanego w DNA gospodarza.

Odkrycie wiroidów u roślin nasunęło myśl, że również pewne zakaźne choroby ludzi i zwierząt, przy których nie można wykazać czynnika wirusowego, szczególnie trzęsawka owiec i zakaźne zapalenie wątroby typu B (15), mogą być powodowane przez wiroidy. Tu warto przypomnieć, że pierwszy wirus wykazano też najpierw przy chorobie roślin — mozaice tytoniowej (Iwanowski w 1892 r., Beijerinck w 1899 r.) a pierwszy wirus zwierząt, pryszczycy, w 12 lat później.

Szczególnie dużo uwagi poświęcono wyjaśnieniu czy czynnik wywołujący trzęsawkę (scrapie) u owiec jest wiroidem — pierwszy taką sugestię wysunął w 1972 r. Diener. Sprawa ustalenia etiologii jest ważna dla opracowania metod zwalczania tej choroby, ale przede wszystkim ze względu na to, że zarazek jest dobrym modelem przy badaniu schorzeń ośrodkowego układu nerwowego człowieka, które omówiono w pierwszej części artykułu.

Przedstawiono szereg argumentów za, jak też przeciw przyjęciu wiroidowej natury trzęsawki. Ward i wsp. (14) na podstawie ujemnych wyników fenolowej ekstrakcji czynnika zakaźnego z mózgow zakażonych myszy uznali, że nie jest to wiroid. Zagadnienie nie zostało jednak ostatecznie rozstrzygnięte i jest nadal przedmiotem rozważań i badań. Ostatnio Semancik i wsp. (11) uzyskali dane (wymagają one potwierdzenia przez innych badaczy) wskazujące, że czynnik etiologiczny trzęsawki zawiera zakaźny DNA o ciężarze drobinowym takim samym jak stwierdzony u RNA poznanych dotąd wiroidów roślin. Oporność czynnika zakaźnego trzęsawki na promieniowanie UV nie wyklucza obecności DNA, jeżeli się przyjmie, że nieoczyszczony zarazek jest ściśle związany z błonami komórkowymi i one chronią go przed promieniowaniem, podobnie jak to ma miejsce w przypadku nieoczyszczonych wiroidów roślinnych.

O identyczności lub odmienności wirusów niekonwencjonalnych i wiroidów rozstrzygną wyniki dalszych badań nad czynnikiem wywołującym trzęsawkę owiec.

Piśmiennictwo

1. Diener T. O.: *Virology* 45, 411, 1971.
2. Diener T. O.: „Viruses and environment”, edit. E. Kurstak and K. Maramorosh. Academic Press, New York, 1978.

3. Gajdusek D. C.: In „Les Prix Nobel en 1976”. The Nobel Foundation, P. A. Norstedt and Soner, Stockholm 1977.
4. Gajdusek D. C.: Science 197, 943, 1977.
5. Gajdusek D. C., Gibbs C. J.: In „Viruses and environment”, edit. E. Kurstak and K. Maramorosh. Academic Press, New York 1978.
6. Gajdusek D. C., Gibbs C. J., Asher D. M., Brown P., Diwan A., Hoffman P., Nemo G., Rohwer R., White L.: New Engl. J. Med. 297, 1253, 1977.
7. Horne R. W.: Structure and function of viruses. R. Arnold, London, 1978.
8. Kahana E., Alter M., Braham J., Sofer D.: Science 183, 90, 1974.
9. Larski Z.: Medycyna Wet. 27, 129, 1971.
10. Mayer V., Orolin D., Mitrovic E.: Lancet II, 256, 1977.
11. The therapie agent — is it a viroid? (Editorial): Science 203, 532, 1979.
12. Truszczyński M.: Medycyna Wet. 35, 257, 1979.
13. Viroide — ein neuer Typ von Krankheitserregern (Editorial): Münch. Med. Wschr. 119, 8, 1977.
14. Ward R. L., Porter D. D., Stevens J. G.: J. Virol. 14, 1099, 1974.
15. Zuckerman A. J.: Lancet I, 1486, 1973.

Adres autora: prof. dr Zdzisław Larski, 10-957 Olsztyn-Kortowo, bl. 37.

ZBIGNIEW BACZYŃSKI, DANUTA SKULMOWSKA-KRYSZKOWSKA,
JAN ŻMUDZIŃSKI, STANISŁAW MAJDAN

Próby stosowania wielowaznej surowicy odpornościowej przeciw zakazeniom bakteryjno-wirusowym cieląt i młodego bydła

Z Zakładu Wirusologii Instytutu Weterynarii w Puławach

Rozwój hodowli wielkotowarowej w ostatnich latach wyłonił nowe problemy zoohigieniczne i epizootologiczne. Duża koncentracja zwierząt w jednym obiekcie, transporty cieląt, nieodpowiednie warunki zoohigieniczne i pielęgnacja stanowią w niektórych przypadkach duży czynnik stresowy, obniżający odporność naturalną organizmu. W takiej sytuacji nawet warunkowo-chorobotwórcze zarazki mogą stać się źródłem enzootii w stadzie.

Według danych Międzynarodowego Biura Epizootycznego w Paryżu schorzenia układu oddechowego u cieląt powodują upadki 20—25% zwierząt.

Również w Polsce straty powodowane przez enzootyczne zapalenie dróg oddechowych u bydła mają istotny wpływ na stan zdrowotny zwierząt i kształtowanie się efektów ekonomicznych.

Etiologia schorzeń układu oddechowego cieląt jest złożona. Do zachorowań dochodzi najczęściej na tle infekcji wirusowej i bakteryjnej z równoczesnym udziałem nieswoistych czynników środowiskowych. Spośród czynników zakaźnych współdziałających w powstawaniu schorzenia wymienia się wirusy PI-3, IBR/IPV, BVD-MD, adenowirusy, reowirusy, wirus RSB oraz mykoplazmy i bakterie z grupy: *Pasteurella*, *Salmonella*, *E. coli*, *Str. zooepidemicus*. Serologiczne badania przeglądowe populacji bydła w Polsce przeprowadzone przez Baczyńskiego i wsp. (2—9), Kite (17), Majewską i wsp. (20, 21), Buczka (12) i Skulmowską-Kryszkowską i wsp. (26) wykazały, że najczęściej zwierząt, bo aż 84% posiadało przeciwciała dla wirusa PI-3.

Celem badań była ocena wartości ochronnej surowicy odpornościowych, zawierających przeciwciała antywirusowe i antibakteryjne oraz próba zapobiegania wystąpieniu schorzeń układu oddechowego u cieląt nowo wprowadzonych do fermy poprzez zastosowanie swoistych surowic, przy równoczesnym zapewnieniu w miarę optymalnych warunków środowiskowych, utrzymania i pielęgnacji zwierząt.

Materiał i metody

Optymalizacja warunków środowiskowych

Optymalizacja warunków środowiskowych polega w głównych założeniach na utrzymaniu pełnej obsady budynku przeznaczanego na kwarantannę, stosowaniu zasady „all in — all out” w tym pomieszczeniu oraz uruchomieniu i utrzymaniu w pełnej sprawności technicznej urządzeń wentylacyjnych.

Cielęta wprowadzano do danego sektora po dokonaniu dokładnego oczyszczenia i dezynfekcji kojców. W dniu wprowadzenia cieląt do kwarantanny przeprowadzono szczepienia surowicami odpornościowymi.

Surowice odpornościowe

a) Surowica Boviforin prod. Gorzowskich Zakładów Przemysłu Bioweterynaryjnego, zawierająca przeciwciała dla *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *Str. zooepidemicus*.

b) Surowica doświadczalna Polibovin — produkowana na wołach zgodnie z technologią produkcji surowicy Boviforin z tym, że zwierzęta te hiperimmunizowano dodatkowo antygenem wirusa parainfluenza-3. Surowica zawierała przeciwciała dla wirusa PI-3 o mianie w odczynie zahamowania hemaglutynacji (HI) średnio 1:10 000.

c) Surowica Polisepsin swoista dla *Pasteurella multocida*.

Surowicę Polibovin podawano dwukrotnie w odstępie 14 dni, podskórnie, w ilości 0,5—1,0 ml/kg c.c. lub donosowo w dawce 6—7 ml do każdego otworu nosowego oddzielnie; surowice Boviforin i Polisepsin podawano podskórnie w ilości 0,5—1,0 ml/kg c.c. dwukrotnie w odstępie 14 dni.

Układ badań

Badania wykonano w dwóch układach doświadczalnych na 407 cielętach w wieku 4—6 tygodni, w dwóch gospodarstwach hodowlanych. Doświadczenia przeprowadzono w okresie zimowo-wiosennym (od stycznia do czerwca).

W eksperymencie I wykonano badania porównawcze nad donosowym i podskórnym podaniem surowicy, w eksperymencie II natomiast badano porównawczo wartość ochronną surowicy Polibovin stosowanej podskórnie z surowicami Boviforin i Polisepsin. W doświadczeniu I uwzględniono ponadto grupę cieląt chorych z typowymi objawami zespołu oddechowego, dla oceny skuteczności leczniczej. Zwierzętom tym podawano Polibovin w dawce leczniczej 1,0—2,0 ml/kg c.c. podskórnie, dwukrotnie w odstępie 14 dni oraz przez 5 kolejnych dni Trimerazin w dawce 5g/20 kg c.c., jeden raz dziennie.

Kryteria skuteczności działania ochronnego surowic

Skuteczność działania surowic oceniano na podstawie wskaźników zachorowalności, śmiertelności, se-