

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZDZISŁAW LARSKI

Olsztyn

Wzajemne oddziaływanie wirusów

Zapoczątkowanie, przebieg i zejście zakażenia zależą nie tylko od ilości i zjadliwości zarazka, rezystencji organizmu, stanu jego ewentualnego immunitetu (czynnego po przebytej w przeszłości ekspozycji lub biernego uzyskanego od matki), ale też od udziału innych dodatkowych czynników zakaźnych. Te ostatnie powodować mogą wtórne zakażenie prowadzące do komplikacji niekiedy groźniejszych niż zakażenie pierwotne. Znane są dobrze przypadki ujawniania się działania bakterii jako następstwo osłabienia rezystencji organizmu przez zakażenie wirusowe. Chorobotwórczość wykazują wtedy np.: pałeczki grypy, a ostatnio też gronkowce przy grypie (influenzie) człowieka i zwierząt; pałeczki *Pasteurella* w następstwie zakażenia wirusem parainfluenzy-3 u bydła; pałeczki okrężnicy, gronkowce, paciorkowce i *Bordetella bronchiseptica* przy nosówce psów; pałeczki *Salmonella* i *Pasteurella* przy pomorze świń. Znajduje to swój wyraz w znanym powiedzeniu, że „po wirusach często przychodzą bakterie”. Trzeba tu jednak podkreślić, że prawie z reguły „nie przychodzą” one z zewnątrz, a są to bakterie własne, przebywające dotąd w organizmie, lecz nie znajdujące warunków do przejawienia swej chorobotwórczości.

Przypuszczenie, że wirusy mogą indukować powstawanie receptorów dla umocowania się bakterii w komórkach nabłonkowych potwierdzono *in vitro*. Wykazano większą zdolność wiązania gronkowca złocistego i paciorkowca bezmleczności przez komórki zakażone wirusem grypy; wydaje się, że receptorami dla tych bakterii stają się hemaglutyniny wirusa wbudowane w błonę cytoplazmatyczną. Babiuk (3) omawia kilka możliwych mechanizmów wspomagania zakażenia bakteryjnego w narządzie oddechowym przez zakażenia wirusowe. Najważniejszy to zwiększenie przylegania (adhezji) i kolonizacji bakterii zarówno gram-dodatnich, jak i gram-ujemnych na błonach śluzowych. Spowodowane to jest prawdopodobnie zmianami na powierzchni komórek gospodarza, indukowanymi przez wirus powstawania receptorów dla bakterii (np. dla *M. pneumoniae*, pewnych szczepów *Actinomyces* i *Pseudomonas aeruginosa*) oraz zmianami w środowisku pozakomórkowym, co pośrednio sprzyja adhezji. Zakażenie wirusowe powodujące znaczne krwawienie i uszkodzenie tkanek prowadzi do miejscowego wzrostu poziomu żelaza. Stwarza to korzystne środowisko dla namnażania się bakterii, a także — co stwierdzono w kilku przypadkach — powoduje wzrost ilości adhezyn i powstanie fimbrii. Zakażenia wirusowe mogą też hamować wytwarzanie bakteriobójczych i bakteriostatycznych wydzielin błon śluzowych, a to powoduje szybkie namnażanie się przyczepionych bakterii i tworzenie ich mikrokolonii. Te mogą być aspirowane do płuc (zwłaszcza przy upośledzeniu oczyszczającego działania nabłonka migawkowego), gdzie chronione przed działaniem przeciwciał mogą ponadto wytwarzać i wydalać toksyny. Wykazano też upośledzające działanie zakażeń wirusowych na fagocytowanie bakterii gram-dodatnich przez makrofagi pęcherzykowe (pierwszy mechanizm obrony płuc), a także bakterii gram-ujemnych przez granulocyty obojętnochłonne. Ba-

biuk podaje, że około 90% przypadków zapaleń płuc jest następstwem zakażenia wirusowego.

Niektóre zakażenia wirusowe ułatwiają też wtórne zakażenia grzybicze; na przykład grzyby z rodzajów *Candida*, *Aspergillus* i *Mucor* komplikują przebieg panleukopenii kotów (45).

Rzadkie, a właściwie wyjątkowe jest dotąd stwierdzenie sytuacji, w której wirus działa antagonistycznie wobec bakterii. Jest to następstwem zniszczenia przez neuraminidazę wirusa grypy, receptorów dla niektórych szczepów *Mycoplasma gallisepticum*, a także dla pałeczki okrężnicy (*E. coli*) powodującej odmiedniczkowe zapalenie nerek.

Bardzo różnorodną są też inne wzajemne oddziaływania czynników zakaźnych. Jednym z nich jest zjawisko synergizmu bakteryjnego. Na przykład proteazy niechorobotwórczych bakterii, odsianiając glikolipidowe receptory dla lektyn *E. coli*, wywołującej odmiedniczkowe zapalenie nerek, umożliwiają adhezję tych bakterii i zapoczątkowanie zakażenia. Dalszy przykład synergizmu to zwiększenie chorobotwórczości laseczki tężca przez inne bakterie, zwłaszcza ropotwórcze tlenowce, które w ranie stwarzają beztlenowe warunki do namnażania się laseczek i produkcji toksyny tężcowej.

Korzystny dla zakażonego organizmu jest antagonizm między bakteriami. Wzrasta ostatnio liczba danych wskazujących na obronną rolę interferencji w pewnych zakażeniach wywołanych przez bakterie i pierwotniaki (5). Istotą tej bakteryjnej interferencji może być to, że receptor dla jednej bakterii jest całkowicie lub częściowo identyczny z receptorem dla innej bakterii, co może wyrażać się wzajemnym jego blokowaniem. Jeden drobnoustroj może także niszczyć lub zmieniać receptory dla innego.

Potwierdzenie obronnej roli interferencji bakteryjnej stanowią dane wskazujące na możliwość praktycznego wykorzystania tego zjawiska. Dobre wyniki uzyskano już w latach 60-tych w USA, zasiedlając u nowo narodzonych dzieci ich jamę nosowo-gardłową apatogennymi (cyt. wg. 35) bakteriami, a także u cieląt noworodków (33, 35). Działanie ochronne takiego bezobjawowego zakażenia przypisuje się antybiozie, będącej m.in. następstwem konkurencji drobnoustrojów. Powszechnie uznawana jest rola ochronna saprofitycznej flory bakteryjnej przed bakteriami chorobotwórczymi w jelitach. Ostatnio wykazano, że niezjadliwe szczepy gronkowca *Staphylococcus hyicus* skutecznie przeszkadzają kolonizacji i zakażeniu zjadliwym szczepem tego drobnoustroju stanowiącego przyczynę wysiękowego zapalenia skóry u świń (1); taką interferencję stwierdzono też między niezjadliwym a zjadliwym szczepem gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) u ludzi (2). Kolonizację skóry przez bakterie ropotwórcze utrudniają także wolne kwasy tłuszczowe, powstające z rozkładu obojętnych tłuszczów przez niektóre saprofityczne bakterie na powierzchni skóry.

Omówione dotąd zależności między czynnikami zakaźnymi są teoretycznie ciekawe i bardzo istotne dla losu zakażonego organizmu. Wpływ na ten los wywiera także

wzajemne oddziaływanie między wirusami i to jest głównym przedmiotem niniejszego artykułu. Wyróżnić tu można dwa podstawowe typy tej zależności — interferencję (czyli przeszkadzanie, hamowanie zakaźności) i synergizm (współdziałanie, zwiększanie zakaźności) wirusów.

Interferencja wirusowa i synergizm wirusów

Istota zjawiska interferencji polega na tym, że zakażenie organizmu (lub komórek *in vitro*) jednym wirusem daje w pewnych warunkach szybko pojawiającą się, niekiedy w ciągu kilku godzin, niewrażliwość na następne zakażenie innymi wirusami. Zjawisko to uwarunkowane jest obecnością interferonu, glikoproteidu wytwarzanego bardzo szybko przez zakażoną komórkę, działającego nieswoiście to znaczy zabezpieczającego komórki nie tylko przeciw temu wirusowi, pod wpływem którego powstał (wirus interferujący), ale też przeciw wielu innym wirusom (wirusy interferowane). Zaznaczona jest natomiast swoistość gatunkowa interferonu, wyrażająca się tym, że wykazuje on działanie głównie tylko w komórkach tego gatunku gospodarza, w którym powstał, co bardzo ogranicza szerokie zastosowanie go. Ostatnio dzięki osiągnięciom inżynierii genetycznej możliwe jest otrzymywanie interferonu w dużych ilościach.

W odróżnieniu od przeciwciał, będących produktem reakcji głównie na obce białko, wykazujących swoistość, wytwarzanych tylko przez limfocyty i plazmocyty i działających bezpośrednio na wirus, interferon jest produktem reakcji na obcy kwas nukleinowy, nie wykazuje swoistości, powstawać może w różnych komórkach, nie działa bezpośrednio na wirus, a na komórkę, czyniąc ją niezdolną do jego syntezy.

Mechanizm przeciwwirusowego działania interferonu nie został jeszcze całkowicie pewnie wyjaśniony. Przyjmuje się, że istotą jego jest na poziomie molekularnym hamowanie przekazywania informacji genetycznej. Interferon może również wykazywać działanie ochronne w następstwie aktywacji kilku mechanizmów obronnych, szczególnie cytotoksyczności komórek NK (ang. natural killer cells — naturalne komórki zabójcze) — takie agresywne NK mogą selektywnie niszczyć komórki zakażone wirusem. Stwierdzono też inne mechanizmy interferencji, hamowanie namnażania wirusa bez udziału interferonu. W tych przypadkach pierwszy wirus (interferujący) zmienia, niszczy lub blokuje receptory komórkowe, uniemożliwiając tym samym adsorpcję następnego wirusa (interferowanego) — nosi to nazwę interferencji wiązania (15); stwierdzono ją np. między wirusem białaczki drobiu a wirusem mięsaka Rousa i w tym przypadku zjawisko jest swoiste. Nie wiadomo, jaki jest mechanizm stwierdzonego ostatnio przez Scolaro i wsp. (46) konkurencyjnego, hamującego działania apatogennego szczepu HIV (wirusa choroby AIDS) wobec zjadliwych szczepów wirusa. Autorzy ci izolowali taki niepatogeny szczep od serologicznie dodatniego osobnika z grupy ryzyka, zakażonego prawdopodobnie przed ponad 10 laty, lecz nie wykazującego objawów choroby, a nadużywającego dożylnych narkotyków i utrzymującego liczne kontakty z chorymi na AIDS partnerami, którzy następnie umarli już w 1983 r. Krew tego dawcy podano 11 pacjentom z bardzo zaawansowanym AIDS, u których leki przeciwwirusowe nie dawały efektu. Pacjenci są obecnie (marzec 1991 r.) pod stałą kliniczną obserwacją od 6 miesięcy; u czterech nastąpiło polepszenie, u trzech brak reakcji, u trzech pogorszenie a jeden zmarł. U wszystkich 10, którzy przeżyli stwierdzono stopnio-

wy powrót komórkowego immunitetu (jego brak jest istotą AIDS), a także zahamowanie dalszej utraty limfocytów T4.

Zjawiskiem odwrotnym do interferencji jest synergizm, czyli wspierające działanie jednego wirusa na inny. Różne mogą być tego przyczyny, a jedną z możliwych jest pojawienie się na powierzchni komórki nowych receptorów, swoistych dla danego wirusa, w następstwie uprzedniego zakażenia jej innym. Stwierdzono na przykład (22), że komórki nie mające receptorów dla wirusa Epsteina-Barr (wywołującego u ludzi chłoniaki Burkitta, raka noso-gardzieli i mononukleozę zakaźną) nabywają je, a w konsekwencji stają się na niego wrażliwe po uprzednim zakażeniu wirusem *Sendai* (parainfluenzy-1). Lusso i wsp. (31, 32) stwierdzili ostatnio, że ludzki herpeswirus typ 6, HHV-6 (human herpesvirus-6), omówiony w innym artykule (27), powoduje powstanie na pewnych limfocytach receptorów swoistych dla HIV (wirusa choroby AIDS), czyniąc te komórki wrażliwymi na zakażenie. Stwierdzenie tego faktu może okazać się bardzo istotne dla poznania patogenyzy choroby AIDS, zwłaszcza, że HIV z kolei pobudza namnażanie się HHV-6, co prowadzi do powstania błędnego koła (32). Inne przykłady synergizmu wirusów i możliwe mechanizmy tego zjawiska omówiono w dalszej części tego artykułu.

Biorąc jednak pod uwagę dość powszechną zdolność wielu wirusów do indukowania wytwarzania interferonu i jego nieswoistość, tj. działanie na inne wirusy, można byłoby przypuszczać, że mieszane zakażenia wirusowe należą do rzadkości, a tak nie jest.

Mieszane zakażenia wirusowe

W wielu przypadkach byłoby może słuszniej mówić nie tyle o mieszanych zakażeniach, co o równoczesnej obecności w danym narządzie różnych wirusów mogących nie wykazywać żadnego wzajemnego oddziaływania. Wirusy mogą wnikać do organizmu równocześnie lub też jeden z nich dostaje się tam później, a więc już do zakażonego, a nawet chorego osobnika — następuje nakładanie się zakażenia. W obu przypadkach umiejscowienie wirusów odpowiada ich tropizmowi, natomiast pewne dane wskazują, że w takim mieszanym zakażeniu utrzymują się one dłużej niż przy monoinfekcji, tj. pojedynczym zakażeniu (cyt. wg 41).

Priskoka (41) przytacza dane dotyczące mieszanych zakażeń u bydła, świń, ptaków i psów. W chorobowo zmienionych narządach i w kale najczęściej stwierdza się następujące asocjacje: korona- i rotawirusów; rotawirusów; wirusa rinotracheitu bydła, wirusa parainfluenzy i wirusa biegunki bydła; wirusa zapalenia oskrzeli kur i adenowirusa; parwo- i rotawirusów; wirusa biegunki bydła i grudkowego zapalenia jamy ustnej; wirusa pryszczycy i wirusa pomoru świń; korona- i enterowirusów.

Ta różnorodność asocjacji stwarzać może niekiedy duże trudności diagnostyczne. Konieczne jest rozstrzygnięcie, czy dany proces chorobowy jest wyrazem działania jednego wirusa, a drugi jest w tym przypadku bez znaczenia, czy też oba są odpowiedzialne za zmiany patologiczne, a może żaden z nich, gdyż oba są wirusami sierocymi (ang. orphan viruses — tak określa się wirusy, których chorobotwórczości dotychczas nie udowodniono), a chorobę wywołał inny zakaźny albo nawet niezakaźny czynnik patologiczny. To ostatnie dotyczyć też może sytuacji siewstwa wirusów po zakażeniu przebyłym w przeszłości.

Dlatego ostateczne rozpoznanie nie może opierać się tylko na wynikach badania wirusologicznego, a musi uwzględnić także dane epizootyczne, obraz kliniczny i zmiany anatomopatologiczne. Stwierdzenie tych ostatnich w wielu różnych narządach nasuwa podejrzenie mieszanego zakażenia, z drugiej strony jednak wiadomo, że zakażenie tego samego narządu może być wywołane wieloma wirusami, na przykład jelit: korona-, entero-, rota-, kalici-, parwo-, adeno- i astrowirusami; dróg oddechowych: rino-, herpes-, mykso-, paramykso-, entero-, reo- i adenowirusami.

Istotne znaczenie mają też wyniki badań serologicznych, należyte zinterpretowane. Samo wykazanie przeciwciał dla danego wirusa wcale nie musi świadczyć, że on właśnie był w tym przypadku sprawcą choroby. Dodatni wynik może być bowiem tylko dowodem kontaktu organizmu z tym zarazkiem (a nawet szczepienia) także w przeszłości; co więcej, stwierdzenie przeciwciał dla danego wirusa przy ostrym przebiegu choroby wyklucza jego rolę chorobotwórczą w mieszanym zakażeniu. W takim krótkim czasie przeciwciała nie mogły bowiem powstać, a te wytworzone w przeszłości stanowią przeciwieństwo obronę organizmu. Tylko specjalne metody pozwalają stwierdzić, że wykazane przeciwciała są następstwem świeżego, aktualnie toczącego się zakażenia określonym wirusem (serodiagnostyka). Szczegóły istoty testów serologicznych i ich interpretacji omówiono w innym artykule (25). Sposób postępowania rozpoznawczego w zakażeniach mieszanych oparty głównie na badaniach serologicznych podaje też m.in. Priskoka (41).

Mieszane zakażenie, a raczej równoczesna obecność dwu różnych wirusów w hodowlach komórek może być też spowodowana tym, że te ostatnie w momencie wprowadzenia drugiego wirusa są już zakażone innym. Na przykład hodowle komórek sporządzone z nerki zdrowych świń mogą zawierać adenowirusy — ich obecność stwierdzono bowiem u około 35% zdrowych rzeźnych świń w różnych narządach (6); tak częste występowanie tych „własnych” adenowirusów, zwłaszcza w nerkach używanych powszechnie do izolacji innych wirusów, utrudniać może diagnostykę. Podobne sytuacje stwierdzono w odniesieniu do onkogenego wirusa SV40 (simian virus 40, małpi wirus 40), który występuje często w nerkach małp używanych do sporządzania hodowli komórek służących do namnażania różnych wirusów. Na przykład w pewnym okresie w takich hodowlach, nie wiedząc o obecności w nich SV40, namnożono wirus polio do produkcji szczepionki przeciw chorobie Heinego-Medina. Podobne laboratoryjne zakażenia mieszane mogą również mieć miejsce przy użyciu zarodków kurzych do namnażania wirusów; wykazano bowiem, że w jajach pochodzących od klinicznie zdrowych kur może występować kilkanaście rodzajów zarazków, w tym też wirusy, z których najniebezpieczniejsze są wirusy białaczek drobiu.

W przypadku sztucznych mieszanych zakażeń laboratoryjnych biorące w nich udział wirusy mogą nie wykazywać oddziaływania. Na przykład przy sporządzaniu szczepionki skojarzonej przeciw chorobie Mareka i chorobie Gumboro (wirusowe zapalenie torby Fabrycjusza) po zakażeniu hodowli fibroblastów zarodka kurzego herpeswirusem indyków (antygenowo odpowiadającym wirusowi choroby Mareka), a po 24 h wirusem choroby Gumboro otrzymano taki sam zbiór obu wirusów, jak w przypadku oddzielnego zakażenia nimi hodowli (12). Niekiedy jednak wirusy „własne” komórek hodowli, jak np. omówione adenowirusy świń, czy SV40 małp, mogą ujawniać się i niszczyć komórki, zmniejszając tym sa-

mych możliwości namnażania się drugiego wprowadzonego wirusa. Samorek-Salamonowicz (44) stwierdziła hamujący wpływ adenowirusów ptasich (występują one u około 40% zdrowego drobiu) obecnych w hodowlach komórek zarodka kurzego na namnażanie się w nich indyjskiego herpeswirusa; wykazała przy tym, że istotą tego hamowania replikacji herpeswirusa nie była interferencja, a niedobór argininy zużywanej przez adenowirusy szybko namnażające się w tym mieszanym zakażeniu.

Wykazano natomiast wspomagający wpływ wirusa K szczurów na namnażanie się adenowirusa w fibroblastach szczura (13) oraz wirusa grypy na namnażanie się wirusa *herpes simplex* (opryszczki zwykłej) w fibroblastach zarodka kurzego (49).

Znacznie zróżnicowane są następstwa mieszanych zakażeń wirusami nowotworowymi (onkogennymi) i nie-nowotworowymi. Na przykład u myszy zakażonych wirusem Riley'a stwierdzono wzrost onkogennego działania wirusów mięsaka myszy po sztucznej inokulacji (54), a trwale zakażenie wirusem LCM (ang. lymphocytic choriomeningitis — limfocytarne zapalenie opon mózgowych i spłotów naczyniówkowych) może aktywować u myszy fenotypowe ujawnienie się genomu wirusa białaczki Grossa (38). Przy sztucznym mieszanym zakażeniu stwierdzono pobudzający efekt wirusa krowianki i wirusa opryszczki zwykłej (*herpes simplex*) typu 2 na rozwój białaczki u myszy (37); mieszane sztuczne zakażenie wirusem RAV (Rous-associated virus) i wirusem choroby Mareka powodowało trzykrotny wzrost częstości rozwoju chłoniaków u kurcząt w porównaniu z grupą ptaków zakażonych samym wirusem choroby Mareka. Wirusy onkotropowe, tj. wykazujące szczególną skłonność do namnażania się w nowotworze, wywołają jego niszczenie (onkolizę); wiele danych wskazuje jednak, że mogą one działać w bardzo wczesnym okresie onkogenyzy na same wirusy onkogenne. To działanie, uwarunkowane obecnością interferonu, może być zdaniem Barona i Levy'ego (4) dwojakie — następuje hamowanie namnażania się wirusów nowotworowych, a ponadto interferon zapobiega wewnątrzkomórkowym zjawiskom prowadzącym do transformacji. Wprowadzenie myszom wirusa choroby Newcastle (rzekomego pomoru drobiu) równocześnie z komórkami chłoniaka wzmacnia oporność zwierząt na rozwój tego nowotworu (16). Hamujące działanie wirusa Sendai na rozwój białaczki myszy Friend jest następstwem produkcji interferonu (24). Podobnie po wprowadzeniu królikowi wirusa WEE lub JE zmieszanego z wirusem włókniaka Shope'a następuje zupełne zahamowanie rozwoju nowotworu (51) w następstwie interferencji. Stwierdzono też (cyt. wg 51), że hamowanie onkogennego działania wirusa mięsaka Rousa przez wirus grypy jest wynikiem działania interferonu, natomiast przez wirus Coxsackie oparte jest na innych mechanizmach, ponieważ zjawisko takie obserwowano także w pewnych układach, w których wirus ten nie indukuje produkcji interferonu. Przypuszcza się też, że hamowanie onkogennej aktywności adenowirusów u człowieka przez ich wirusy satelity nie polega na działaniu interferonu (50). U myszy zakażonych naturalnie wirusem Riley'a mniejsza jest częstość występowania raka gruczołu mlecznego (43).

Mieszane zakażenie myszy wirusem Coxsackie A i wirusem polio (choroby Heinego-Medina) wyraża się cięższym przebiegiem; tłumaczy się ten synergizm uszkodzającym działaniem jednego wirusa na barierę krwionogową, co ułatwia drugiemu dotarcie do ośrodkowego, układu nerwowego (36). Interesujące jest, że w przypad-

ku zakażenia wirusem Coxsackie B i wirusem polio stwierdzono odwrotne zjawisko, tj. interferencję wyrażającą się złagodzeniem przebiegu zakażenia wirusowego (36). Wirus *Herpes simplex* działa synergistycznie wobec zakażenia myszy wirusem choroby Aujeszkyego (48).

Bülov i wsp. (9, 10, 11) stwierdzili, że podwójne zakażenie piskląt wirusem anemii piskląt, CAA (ang. chicken anemia agent — czynnik anemii piskląt) i wirusem choroby Mareka wyraża się w ciągu 14 dni po zakażeniu dużą śmiertelnością (87%) w następstwie aplastycznej anemii, u piskląt zakażonych samym CAA śmiertelność wynosiła 13% a w grupie ptaków zakażonych samym wirusem choroby Mareka była znikoma.

Ten efekt podwójnego zakażenia może być spowodowany immunosupresyjnym działaniem wirusa choroby Mareka, chociaż nie można też wykluczyć synergistycznego działania zarazków. Również podwójne zakażenie piskląt wirusem CAA i wirusem retikuloendoteliozy (czynnik onkogenny) ptaków powodowało bardziej znaczone zmiany patologiczne, wzrost śmiertelności i częściowe opóźnienie rekonwalescencji. Stwierdzono też, że ochronne działanie przeciwciał przeciw CAA ulega wyraźnemu przelamaniu przez podwójne zakażenie, zwłaszcza wirusami choroby Gumboro i CAA. Wykazano, że dopiero podwójne zakażenie piskląt adenowirusem i wirusem CAA prowadzi do rozwoju schorzeń odpowiadających występującemu w tuczu drobiu syndromowi IBH (ang. inclusion body hepatitis — zapalenie wątroby z ciałkami wtrętowymi) łącznie ze skazą krwotoczną (11). Uzyskane dane skłaniają do poglądu, że wirus CAA (anemii piskląt) jako główna przyczyna powikłań przy mieszanych zakażeniach młodych kurcząt może mieć przynajmniej tak duże znaczenie, jak wirus choroby Gumboro.

Na synergizm adenowirusa EDS-76 (egg drop syndrome — syndrom spadku nieśności) i parwowirusa choroby Derzsyego u rosnących kacząt wskazują wyniki badań Couderta i wsp. (14); podwójne zakażenie powodowało większą śmiertelność i mniejsze przyrosty ciężaru ciała ptaków w porównaniu z zakażonymi tylko jednym wirusem.

Stwierdzenie dwu wirusów u chorych zwierząt nie zawsze uznać można za zakażenie mieszane. Na przykład Bridger i wsp. (7) izolowali u cieląt z tych samych próbek kału wirus kalicipodobny (calici-like virus) i astrowirus. Po rozdzieleniu ich przez pasażę na cielętach wykazano, że tylko kalicipodobny wirus był patogeny. Nie zawsze udaje się wyjaśnić, który z dwu izolowanych jest w danym przypadku czynnikiem chorobotwórczym, np. Theil i wsp. (52) stwierdzili równoczesne zakażenie wirusem TGE (transmissible gastroenteritis — zakaźne zapalenie żołądka i jelit) i rotawirusem u kilkudniowych prosiąt z objawami biegunki (oba te wirusy niezależnie od siebie też wywołują takie objawy).

Harbour i wsp. (19) przebadali w W. Brytanii w okresie 10 lat wymazy z jamy ustnej i gardła 6866 kotów domowych na siewstwo kociego kaliciwirusa i kociego herpeswirusa; ten pierwszy izolowali od około 20%, a drugi od około 4% zwierząt; tylko 7 kotów było równoczesnymi siewcami obu wirusów.

Badania Knowlesa i wsp. (23) sugerują istnienie synergizmu między kaliciwirusem kotów a izolowanym ostatnio wirusem niedoboru immunologicznego kotów, oznaczonym symbolem FIV (ang. feline immunodeficiency virus — analogicznie do HIV, sprawcy AIDS u ludzi), omówionym w innym artykule (27). Ponad 70% kotów

z chronicznym zapaleniem dziąseł i jamy ustnej wydala kaliciwirus, jednak jego znaczenie chorobotwórcze jest niejasne, gdyż nie udało się dotąd wywołać tego syndromu przez sztuczne zakażenie (19); do rozwoju procesu patologicznego konieczny wydaje się udział dodatkowego czynnika. Na podstawie korelacji między stwierdzaniem kaliciwirusa a obecnością przeciwciał dla FIV w surowicy chorych kotów autorzy tych badań sądzą, że FIV może być jednym z tych czynników (23).

W prowadzonych w Niemczech na wielką skalę badaniach dotyczących biegunki u świń powodowanej przez wirus EVD (ang. epizootic virus diarrhoea — epizootyczna biegunka wirusowa) stwierdzono w jednej z chlewni u warchlaków mieszane zakażenie tym wirusem i wirusem TGE (20); warto tu podać, że oba te zarazki są koronawirusami nie do odróżnienia pod względem cech morfologicznych i patogennych, a różnią się tylko antygenowo (szczepienie przeciw jednemu z nich, a także przebycie nim zakażenia nie uodparnia przeciw drugiemu). Diagnostyczne badania 69 przypadków zakażeń wirusem biegunki bydła (togawirus) w Kanadzie wykazały równoczesne zakażenie wirusem IBR (herpeswirus typu 1 bydła) u trzech zwierząt (47). Stwierdzono zaostrzenie się procesu chorobowego i wzrost śmiertelności u świń w następstwie nałożenia się zakażenia wirusem TGE na rotawirusowe; podobnie u ssących prosiąt mieszane zakażenie entero- i koronawirusowe wyrażało się cięższym przebiegiem i dziewięciokrotnym wzrostem śmiertelności w porównaniu z monoinfekcją (cyt. wg 41).

Pewne ściśle określone syndromy chorobowe są wyrazem naturalnych mieszanych zakażeń wirusowych. Przykładem takich polietiologicznych (wieloprzyczynowych) chorób są przedstawione przez Mayra i wsp. (34): enzootyczna bronchopneumonia bydła, zakaźny kaszel koni i zakaźny kaszel psów, omówione także w innym artykule (26).

Enzootyczną bronchopneumonię bydła występującą u cieląt i młodego bydła (głównie w wieku 3—18 miesięcy) wywołuje mieszane zakażenie adenowirusami i reowirusami, w mniejszym stopniu wirusem parainfluenzy-3, wirusem oddechowym syncytialnym (RS) i rinowirusami, wtórne zakażenie jest udziałem głównie pałeczek *Pasteurella*, w mniejszym stopniu innych bakterii, a sprzyjającym warunkiem rozwoju choroby są złe warunki środowiskowe.

Zakaźny kaszel koni (termin ten obejmuje najczęściej występujące i najtrudniejsze w leczeniu schorzenia dróg oddechowych koni) jest następstwem mieszane zakażenia głównie wirusem grypy A typ 1 i 2 koni, herpeswirusami i reowirusami, w mniejszym stopniu rinowirusami i wieloma rodzajami bakterii, a także drożdżakami; sprzyjają wystąpieniu choroby złe warunki środowiskowe.

Zakaźny kaszel psów (*tracheobronchitis infectiosa*, niem. Zwingerhusten, ang. kennel cough), w postaci sezonowej wywoływany jest przez reowirusy, wirus parainfluenzy-2, wirusy grypy (grypy) człowieka, a w mniejszym stopniu przez herpeswirus psa, wirus oddechowy syncytialny (RS), adenowirus zapalenia krtani i tchawicy; z kilku czynników bakteryjnych zasadniczą rolę odgrywają pałeczki *Bordetella*, a czynnikiem sprzyjającym zakażeniu są i w tym przypadku niekorzystne warunki środowiskowe.

Rekombinacja genetyczna

Następstwem mieszane zakażenia komórki może być pojawienie się w populacji cząstek po-

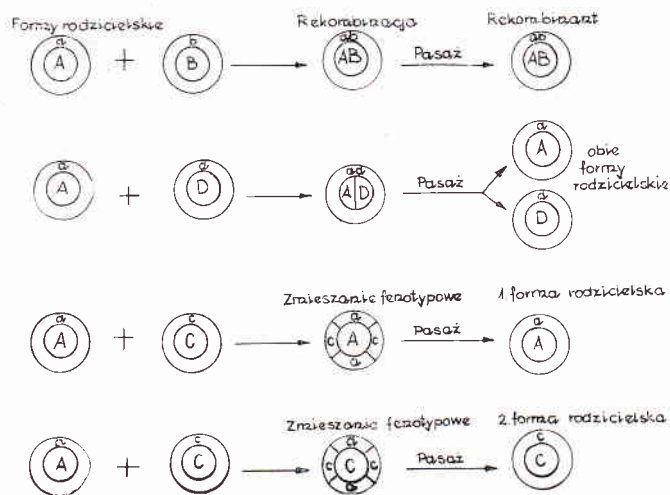
tomnych wykazujących niektóre cechy obu wirusów. Mogą to być trwałe zmiany genetyczne, dziedziczące się dalej, jak też zmiany niegenetyczne.

Dziedziczną postać zmienności wirusów, następującą wskutek wzajemnego genetycznego oddziaływania różniących się od siebie cząstek wirusowych, nazywa się rekombinacją. Formy potomne (rekombinanty) uzyskują cechy obu form rodzicielskich. Rekombinację uzyskano już dość dawno w wielu doświadczeniach *in vitro*, stosując mieszane zakażenie hodowli komórek wirusami spokrewnionymi ze sobą, lecz wykazującymi pewne istotne różnice. Otrzymano na przykład rekombinanty dwu różnych szczepów wirusa krowianki (17), neurotropowych i normalnych odmian wirusa grypy A (8), dwu genetycznie różnych szczepów wirusa *herpes simplex*, szczepów wirusa *polio* (cyt. wg 18), szczepów wirusa pryszczycy różniących się immunologicznie (40).

Wyniki tych i najnowszych badań, oprócz wartości teoretycznych, mają duże znaczenie praktyczne. Znajomość procesów genetycznych pozwala wyjaśnić zjawiska wpływające na rozwój chorób zakaźnych. Ciekawą ilustracją tego stanowią wyniki badań Rasmussena (42) uzyskane na Tajwanie, a dotyczące wyjaśnienia przyczyn pojawienia się azjatyckich szczepów grypy ludzkiej na skutek wzajemnego genetycznego oddziaływania między szczepami ludzkimi a ptasiimi w następstwie zakażeń mieszanych. Podobny pogląd na temat możliwości rekombinacji w warunkach naturalnych wyrazili też inni badacze, a Webster i wsp. (55) otrzymali dzięki zjawisku rekombinacji kilka „nowych” wirusów grypy. Izolowano je od świń po mieszanym zakażeniu ich wirusem pomoru drobiu i wirusem grypy świń oraz od indyków po mieszanym zakażeniu wirusem pomoru drobiu i wirusem grypy indyków. Dane te, stanowiące dowód genetycznego współdziałania wirusów grypy ssaków i ptaków, przemawiają za funkcjonowaniem takiego mechanizmu powstawania nowych typów, powodujących kolejne, obejmujące nieraz cały świat, pandemie grypy ludzi. Występują one co 10 do 20 lat i nie są następstwem mutacji poprzednio istniejących wirusów grypy, a rekombinacji. Rekombinant powstały z wirusa grypy A człowieka i wirusa grypy świń będący przyczyną pandemii 1918/1919 (zwanej „hiszpanką”, która zebrała więcej ofiar śmiertelnych niż II Wojna Światowa) oznaczono A_0 . Następne pandemie wywołał w 1946 r. typ A_1 , a w 1957 r. typ A_2 (tzw. grypy azjatyckiej). Przyczyną pandemii grypy Hong Kong w 1968 r. był rekombinant wirusa grypy Hong Kong i grypy ptaków, a prawdopodobnie także grypy koni (28). Wielorakość izolowanych podtypów antygenowych grypy A powstałych wskutek rekombinacji ilustruje m.in. praca Hinshawa i wsp. (21).

Rekombinację jako przyczynę zmian sytuacji epidemiologicznej lub epizootycznej stwierdzono też w odniesieniu do wirusów rodziny *Bunyviridae* (należą tu m.in. wirusy: kalifornijskiego zapalenia mózgu ludzi, gorączka Doliny Rift owiec i bydła, choroba Nairobi owiec i kóz); przypuszcza się tę rolę rekombinacji w odniesieniu do reowirusów, a być może też innych RNA-wirusów mających segmentowany genom (39).

Omówione drastyczne zmiany antygenowe w następstwie rekombinacji poznano jednak najlepiej u wirusa grypy (grypy) i określa się je jako przesunięcie antygenowe (ang. antigenic shift) powodujące pandemie. Niezależnie od przesunięcia antygenowego pojawiają się stale nowe odmiany (warianty) antygenowe wirusa grypy. Przyczyną tego zjawiska jest niejednorodność popu-



Ryc. 1. Uproszczony schemat powstawania rekombinacji genetycznej, heterozygozy i zmieszania fenotypowego w następstwie zakażenia komórki dwoma wirusami; duże litery oznaczają genom, małe litery — cechy fenotypowe (białka) cząstki wirusa

lacji cząstek wirusa, a nowe warianty pojawiają się w następstwie selekcji już poprzednio w tej populacji istniejących. Gdy pojawia się wariant mający dużą zdolność rozprzestrzeniania się i przewagę nad ostatnio dominującym, lecz już słabnącym wskutek narastania przeciw niemu immunitetu (swoistej odporności, a więc przeciwciał w populacji ludzkiej), to ten nowy staje się dominującym, jednak na krótko. Teraz bowiem następuje powszechne uodpornienie się populacji przeciw niemu, co z kolei prowadzi do jego stopniowej eliminacji i stwarza warunki do ujawnienia się następnego wariantu antygenowego. Burnet (8) określił ten typ zmienności jako dryf antygenowy, a Legeżyński (29) jako ucieczkę w odmianę antygenową. Zjawisko to stwierdzono też u wirusów pryszczycy i arbowirusów grypy B (flawiwirusów).

Mieszane zakażenie może prowadzić, wskutek heterozygozy lub zmieszania fenotypowego, do pojawienia się cząstek wirusowych łączących cechy współzakażających wirusów, lecz cechy te nie mają charakteru dziedzicznego.

Heterozygoza następuje przy równoczesnym namnażaniu się w komórce dwu różnych, ale bardzo blisko ze sobą spokrewnionych wirusów. Potomstwo wykazuje właściwości fenotypowe obu form rodzicielskich, a cząstki wirusów zawierają dwa pełne genomy, jednak nie związane ze sobą ściśle. Dlatego też dalszy pasaż prowadzi do pojawienia się populacji zawierającej obie formy wyjściowe (w odróżnieniu od rekombinacji, gdzie rekombinant jednoczy trwałe cechy rodziców). Brak dotąd danych wskazujących na występowanie tego zjawiska w warunkach naturalnych.

Fenotypowe zmieszanie cechuje się tym, że przy równoczesnym namnażaniu różnych wirusów następuje połączenie powierzchniowych cech fenotypowych (mozaika białek obu form rodzicielskich), bez zmiany genomu cząstki wirusowej. Przy pasażowaniu tego wirusa, mającego cechy obu form rodzicielskich, otrzymuje się namnożenie wirusa mającego tylko cechy jednego z rodziców (tego, którego genom był w cząstce). Kwasy nukleinowe obu form wyjściowych nie reagują ze sobą i zmieszanie fenotypowe można uzyskać nie tylko między różnymi szczepami tego samego wirusa, ale nawet

między wirusami całkowicie różniącymi się od siebie pod względem genetycznym. Porównanie istoty rekombinacji, heterozygozy i zmieszania fenotypowego przedstawia ryc. 1. Krańcowy przypadek zmieszania fenotypowego to powstanie cząstek zawierających genom np. „A” jednego wirusa, a fenotyp (płaszcz białkowy) „c” drugiego (lub odwrotnie). Określa się to jako maskowanie genomu, a takie cząstki z zamaskowanym, ukrytym genomem nazywa się pseudotypami (30, 56). Zjawisko to stwierdza się u wielu wirusów w hodowlach komórek w następstwie mieszanego zakażenia. Ukrycie się genomu wirusa przyczycy w płaszczu enterowirusa była opisana przez Trautman i Suttmoller (53). Po zakażeniu hodowli komórek obu wymienionymi wirusami uzyskano zbiór cząstek wirusa, zawierających genom wirusa przyczycy, ale płaszcz białkowy (fenotyp) enterowirusa; ulegały one zubożeniu przez surowicę zawierającą przeciwciała dla enterowirusa a nie dla wirusa przyczycy, wykazywały typową dla enterowirusów oporność na niskie pH i inne fizykochemiczne cechy tych ostatnich. Przy użyciu rutynowych metod diagnostycznych wykrywających powierzchniowe białka, wirus ten uznano by za „niewinny” enterowirus, a przecież najistotniejszy jest zawarty wewnątrz groźny ładunek genetyczny wirusa przyczycy; nasuwa się tu porównanie do „wilka w owczej skórze”. Wyniki tych badań stanowiąc mogą wyjaśnienie doniesień o istnieniu utajonych postaci przyczycy była (cyt. wg 53) i możliwości wzajemnego reagowania wirusa tej choroby i enterowirusów była w nosogardzieli zwierząt.

Przedstawione w artykule dane dotyczące wzajemnego oddziaływania wirusów w różnych układach wskazują, jak złożone i trudne do badań są te zależności, zwłaszcza gdy weźmie się pod uwagę ich dalszą przedstawioną we wstępie interakcję z bakteriami i grzybami w naturalnym zakażeniu, decydującą o losie zakażonego organizmu.

Piśmiennictwo

- Allaker R. P., Lloyd D. H., Smith I. M.: Vet. Rec. 123, 597, 1988.
- Aly R., Shinefeld H. R.: Bacterial interference. CRC, Florida, 1982.
- Babiuk L. A.: Viral-bacterial synergistic interactions in respiratory infections. w: Applied virology, red. E. Kurstak. Academic Press, Orlando 1984.
- Baron S., Levy H. B.: Ann. Rev. Microbiol. 21, 291, 1956.
- Baron S., Weigent D., Stanton G. J., Peterson J.: Antiviral Res. Suppl. 1, 173, 1985.
- Bibrack B.: Zbl. Vet. Med. 17B, 195, 1970.
- Bridger J. C., Hall G. A., Brown J. F.: Infect. Immun. 43, 133, 1984.
- Burnet F. M.: Genetics of animal viruses. Doerr und Hallauer Handbuch der Virusforschung. Springer Verlag, Wien 1958.

- Bülou V., Fuchs B., Vieltz E., Landgraf H.: Zbl. Vet. Med. 30B, 742, 1983.
- Bülou V., Rudolph R., Fuchs B.: J. Vet. Med. B, 33, 93, 1985.
- Bülou V., Rudolph R., Fuchs B.: J. Vet. Med. B, 33, 717, 1985.
- Chang J. D. T., Edison C. S., Kleven S. H.: Poultry Sci. 64, 841, 1985.
- Chaney C., Brailovsky C.: Compt. Rend. Acad. Sci. 231, 4282, 1955.
- Coudert F., Czakalowa A., Salamowicz E., Couchy L., Dambine G.: Ann. Rech. Vet. 18, 79, 1987.
- Crowell R. L.: J. Bacter. 91, 198, 1966.
- Eaton M. D., Scala A. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132, 20, 1969.
- Fenner F., Comben B. M.: Virol. 5, 139, 1958.
- Ghendon Y. Z.: Genetika Virusov. Nauka, Moskwa 1937.
- Faour D. A., Howard P. E., Gaskell R. M.: Vet. Rec. 128, 77, 1991.
- Hess R. G., Bolluahn W., Pospischil A., Heinritzi K., Bachmann P. A.: Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93, 545, 1980.
- Hinshaw V. S., Webster R. G., Rodriguez R. J.: Arch. Virol. 67, 191, 1981.
- Khelifa R., Menezes J.: J. Virol. 46, 325, 1983.
- Krowles J. O., Gaskell R. M., Gaskell C. J., Harvey C. E., Luiz H.: Vet. Rec. 124, 336, 1989.
- Kriukova I. N., Sieblagin V. J., Diejman G. I., Svet-Moldavski G. J.: Vop. Virusol. 12, 508, 1967.
- Larski Z.: Medycyna Wet. 37, 385, 1981.
- Larski Z.: Medycyna Wet. 38, 197, 1982.
- Larski Z.: Medycyna Wet. 44, 579, 1988.
- Laver W. G., Webster R. G.: Virol. 51, 383, 1972.
- Leczyński S.: Zmienneści wirusów zwierzęcych. w: Biologia wirusów, zes. VII. PAN, Warszawa 1956.
- Liebsmann H.: Arch. exp. Vet. Med. 39, 15, 1985.
- Lusso P., De Maria A., Mainati M., Lori F., DeRocco S. E., Baseler M., Gallo R. C.: Nature 349, 533, 1991.
- Lusso P., Enrolli B., Markham P. D., Ablashi D. V., Salahuddin S. Z., Tschachler E., Wong-Staal F., Gallo R. C.: Nature 337, 370, 1989.
- Mayr A.: Wien. tierärztl. Mschr. 55, 55, 1968.
- Mayr A., Mayr B., Thein P., Witzmann G.: Zbl. Vet. Med. 35B, 222, 1979.
- Mayr A., Schliesser T., Plank P., Herkner G.: Tierärztl. Umsch. 22, 124, 1937.
- McNair Scott T. F.: Adv. Vir. Res. 3, 165, 1981.
- Merekalova Z. I., Yakovleva L. S., Mazurenko N. P., Orekhova N. M.: Vopr. Virusol. 33, 438, 1988.
- Oldstone M. B. A., Aoki T., Dixon F. J.: Science 174, 843, 1971.
- Palase P.: Reassortment continuum. w: Concepts in viral pathogenesis. wyd. A. L. Notkins, M. B. A. Oldstone. Springer Verlag. New York 1981.
- Painle C. R.: Virology 35, 48, 1965.
- Priskoka V. A.: Veterinarija nr 3, 37, 1987.
- Rasmussen A. F.: Avian myxoviruses and man. w: Newcastle disease virus — an evolving pathogen. wyd. R. P. Hanson. University of Wisconsin Press, Madison 1984.
- Riley V.: Science 153, 1657, 1966.
- Semorek-Salamowicz E.: Właściwości krajowych szczepów adenowirusu ptasich z uwzględnieniem ich wpływu na replikację indyczego herpeswirusa. Praca hab. UMCS, Lublin 1987.
- Schiefer B.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 72, 73, 1985.
- Scialora M., Durham R., Piecznik G.: Lancet 337, 731, 1991.
- Slim A., Elzohary M. A. S.: Canad. J. comp. Med. 67, 18, 1983.
- Sjurin V. N.: Rukowodstvo po veterinarnej virusologii. Kolos, Moskwa 1936.
- Sokolov M. I., Podczerniajeva R. J.: Vopr. Virusol. 15, 57, 1970.
- Sprecher-Goldberger S., Dekegel D., Otten J., Thiry L.: Arch. ges. Virusforsch. 30, 16, 1970.
- Takehara M., Makino S., Hotta S.: Acta Virol. 13, 34, 1969.
- Theil K. W., Sanf L. J., Bohl E. H., Agnes A. G., Kohler E. M.: Am. J. vet. Res. 43, 719, 1979.
- Trautman R., Suttmoller P.: Virology 44, 537, 1971.
- Tungr W., Ebert P. S., Bassin R., Spahn G., Chirigos M. A.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135, 1314, 1971.
- Webster R. G., Campbell C. H., Granoff A.: Virology 44, 317, 1971.
- Zavada J.: Arch. Virol. 69, 1, 1976.

Adres autora: prof. dr hab. Zdzisław Larski, Kortowo, bl. 105, 10-957 Olsztyn

IRAVEN M., ALENIUS S., FASSUM C., LARSOON B.: Pierwotne zakażenie cieląt wirusem biegunki bydła w następstwie bezpośredniego kontaktu z cielęciem wiremicznym. (Primary bovine viral diarrhoea virus infection in calves following direct contact with persistently viraemic calf). J. Vet. Med. B 38, 453—462, 1991 (6)

Sześć cieląt w wieku 24 i 58 dni wolnych od zakażenia wirusem biegunki bydła (BVDV) zakażono na drodze kontaktu bezpośredniego od cielęcia w stanie trwałej wirēmii. U wszystkich cieląt 4 dnia po zakażeniu miano interferonu w surowicy osiągnęło wartość maksymalną, a serokonwersja wystąpiła pomiędzy 9 a 11 dniem po zakażeniu. U części cieląt wystąpiła depresja, zaczerwienienie błon śluzowych jamy gębowej i jamy nosowej przy braku biegunki. U wszystkich zakażonych sztuk występowała gorączka do 41,3°C między 8 i 9 dniem po zakażeniu. Ze względu na słabo nasilone objawy ze strony układu oddechowego nie przeprowadzono żadnego leczenia.

CORKISH J., BERAN B. J.: Rozpoznawanie papuzicy. (Diagnosis of psittacosis). Vet. Rec. 128, 42—43, 1991 (2)

Zdiagnozowanie papuzicy u człowieka obciążuje do ustalenia źródła zakażenia i dróg szerzenia się choroby. Podanie ubojowi ptaków podejrzanych celem wykazania obecności Chlamydia psittaci nie zawsze przynosi efekty ponieważ nie zawsze dotychczas stosowane metody diagnostyczne umożliwiają wykrycie tego zarazka. To samo odnosi się do badania kału metodami rytynowymi. Od 4 lat do wykazania obecności C. psittaci w kale jest stosowana metoda ELISA. Jednakże 25% wyników dodatnich uzyskanych w tym odczynie nie można potwierdzić innymi badaniami. Ostatnio opracowano metodę PCR której przydatność oceniono na 1000 ptaków. Ta bardzo czuła i swoista metoda umożliwia postawienie rozpoznania w ciągu 48 godzin. Ponieważ zdrowe ptaki mogą być siewcami chlamydiów w ilościach niewykrywalnych metodą ELISA zaleca się badanie kału lub wymazów pobranych trzykrotnie w okresie 4—5 dni.