

MARIAN TRUSZCZYŃSKI

Puławy

artykuł przeglądowy

Podstawy naukowe zwalczania chorób zakaźnych zwierząt

Summary

The scientific basis of the control of infectious diseases of animals

The role of the Lublin – Puławy Scientific Centre of veterinary medicine in research on infectious diseases has been emphasised and the present significance of these diseases has been characterised. Possibilities of the improvement of diagnostic methods and vaccines, based on the application of achievements of biotechnology have been discussed. The role of the International Office of Epizootics (OIE) has been presented for the international coordination of research and control of infectious diseases, as well as the standardisation of diagnostic tests and requirements for vaccines.

Wprowadzenie

Lubelsko-puławski ośrodek nauk weterynaryjnych, to jest Wydział Weterynaryjny Akademii Rolniczej, Instytut Weterynarii, Ośrodek Badań Weterynaryjnych Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii, Zakład Higieny Weterynaryjnej oraz Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego, w znacznej lub nawet w przeważającej części swego potencjału naukowego koncentrowały się w czasie minionego 50-lecia na problematyce naukowej związanej z doskonaleniem zwalczania chorób zakaźnych zwierząt. Prace te uwzględniały przede wszystkim potrzeby kraju i cechowały się w zakresie realizowanej tematyki i stosowanych metod na ogół wysokim poziomem. Wykraczały one w szeregu przypadków poza ramy krajowe, oddziaływując na wymienioną problematykę również w skali międzynarodowej.

We wstępie do właściwego tematu przedstawiony zostanie jeden z podziałów chorób zakaźnych zwierząt, który ze względu na jego znaczenie praktyczne i stosowanie przez Międzynarodowy Urząd do spraw Epizootii (OIE), wydaje się być najbardziej odpowiedni dla treści tego referatu (8, 22, 33).

W pierwszej grupie – zwanej listą A – umieszcza się choroby o bardzo dużej dynamice szybkiego szerzenia się (8), niezależnie od granic państwowych. Choroby te powodują poważne straty lub negatywne konsekwencje w sferze zdrowia publicznego. Mają one równocześnie duże znaczenie w międzynarodowej wymianie handlowej zwierząt lub ich produktów. O ich wystąpieniu należy natychmiast informować centralną administrację weterynaryjną danego państwa, a stamtąd OIE (2, 22).

Drugą grupę (lista B) tworzą choroby o mniejszym znaczeniu gospodarczym niż poprzednio wymienione i/lub mniej groźne w odniesieniu do zdrowia publicznego (8). Są też mniej niebezpieczne w międzynarodowej wymianie handlowej zwierząt i produktów zwierzęcych, gdyż cechują się mniejszą dynamiką szerzenia się. Mimo to choroby te są na tyle ważne, iż stanowią przedmiot szczególnego zainteresowania państwowej administracji weterynaryjnej. O ich występowaniu należy informować OIE raz do roku.

Trzecią grupę (będącą poza podziałem OIE) stanowią choroby zakaźne o wieloczynnikowej etiologii. Ich przyczyną są warunkowo chorobotwórcze bakterie, mykoplazmy, chlamydie, riketsje lub wirusy, często występujące obok siebie jako pierwotne lub wtórne patogeny. W powstaniu tego rodzaju chorób istotną rolę odgrywają też niekorzystne czynniki środowiskowe.

Nie ulega wątpliwości, że ostatnia wymieniona grupa chorób zakaźnych posiada szczególnie duże znaczenie i jest aktualnie przyczyną poważnych strat gospodarczych. Jednak w obrocie międzynarodowym zwierzętami i produktami zwierzęcymi choroby grupy trzeciej nie mają większego znaczenia, przeciwnie niż choroby dwóch wcześniej wymienionych grup.

Obecne znaczenie chorób zaraźliwych

Wobec osiągniętego postępu w zwalczaniu tzw. klasycznych chorób zakaźnych, a ściślej mówiąc chorób zaraźliwych (lista A i B), zastanówmy się, jaki jest ich stan obecny. Przedstawione na ten temat dane, w odniesieniu do chorób listy A, dotyczą pryszczycy, księgosuszu, pleuropneumonii bydła, afrykańskiego i klasycznego pomoru świń oraz rzekomego pomoru drobiu i afrykańskiego pomoru koni. Pochodzą one z okresu dwóch minionych lat (1992-93).

Na podstawie informacji zebranych przez OIE (14) pryszczycę stwierdzono w podanym okresie w Bułgarii, Turcji, we Włoszech, w Egipcie, Algierii, Tunezji, Kenii, Argentynie, Brazylii, Urugwaju, Indiach, Malezji, Filipinach, Jordanii i w Libanie.

Księgosusz wykazano w Etiopii, Senegal, Sudanie i Indiach a pleuropneumonię bydła w Senegal oraz kilku innych krajach Afryki.

Afrykański pomór świń występował w Hiszpanii i na terenie kontynentu afrykańskiego. Klasyczny pomór świń rozpoznano w Niemczech, Polsce, Łotwie i Ukrainie oraz w Brazylii, Chile, Meksyku i Panamie.

Rzekomy pomór drobiu wykazano w Holandii, Brazylii i Argentynie. Afrykański pomór koni został zdiagnozowany w Algierii i Maroku.

W oparciu o scharakteryzowaną sytuację epizootologiczną wolno stwierdzić, iż choroby listy A pozostają aktualnym problemem w skali globalnej. Występują one nie tylko w krajach rozwijających się, o niskiej efektywności państwowej służby weterynaryjnej, lecz niekiedy również w krajach cywilizowanych kontynentu europejskiego.

Spośród chorób listy B szczególnie aktualnymi pozostają (14): choroba Aujeszkiego, leptospiroza, wścieklizna, brucelloza bydła, ale też owiec i kóz, gruźlica bydła, salmoneloz, trzęsawka (scrapie), Maedi-Visna, u koni – wirusowe zapalenie mózgu i rdzenia, niedokrwistość zakaźna, influenza i wirusowe zapalenie tętnic, u trzody chlewnej – zakaźne zanikowe zapalenie nosa i TGE. U drobiu na uwagę zasługuje zakaźne zapalenie oskrzeli, wirusowe zapalenie wątroby u ka-

czek i pomór kaczek, salmoneloza, choroba Gumboro, choroba Mareka, mykoplazmoza (*M. gallisepticum*).

Dane te jeszcze bardziej dobitnie udowadniają, jak duże jest znaczenie szeregu chorób zaraźliwych w dobie obecnej. Niektóre spośród nich występują również w krajach cywilizowanych o intensywnej produkcji zwierzęcej, na terenie Europy, Ameryki Północnej i Australii.

W ciągu ostatnich kilkunastu lat pojawiły się nieznane dotychczas choroby jak m.in. gąbczaste encefalopatia bydła (bovine spongiform encephalopathy – BSE, 25), rozrodczo-oddechowy zespół chorobowy świń (porcine respiratory and reproductive syndrome – PRRS, 45) oraz krwiotoczna wirusowa choroba królików (viral haemorrhagic disease of rabbits, 3). W szczególności ta pierwsza stanowi z naukowego punktu widzenia zagadnienie wymagające intensywnych badań. Jej patogenoza, jak też zagrożenie zdrowia ludzkiego przez wywołujący ją czynnik, określane jako prion (30), nie są dostatecznie poznane.

W 1992 r. stwierdzono ponad 35 000 przypadków gąbczastej encefalopatii bydła w Wielkiej Brytanii; w Irlandii zanotowano 18, a w Szwajcarii 15 zachorowań.

Informacje te potwierdzają, że choroby zaraźliwe nadal stanowią ważny i aktualny problem z gospodarczego punktu widzenia. Pozostają one też atrakcyjne jako przedmiot prac naukowo-badawczych ze względu na niejasność co do etiopatogenezy, a zwłaszcza ze względu na konieczność doskonalenia metod laboratoryjnego rozpoznawania, jak również immunoprofilaktyki. W badaniach związanych z wymienioną problematyką coraz szersze zastosowanie znajdują osiągnięcia biotechnologii, które zostaną omówione w kolejności, zwłaszcza iż w puławsko-lubelskim ośrodku nauk weterynaryjnych badania z tego zakresu rozwijają się obecnie z dużą intensywnością (32, 38, 40, 42, 52).

Zastosowanie biotechnologii w doskonaleniu metod diagnostyki i szczepionek

Dużym postępem w badaniach nad chorobami zakaźnymi było uzyskanie przeciwciał monoklonalnych przez Köhlera i Milsteina w 1975 r. (27). Dzięki dysponowaniu tego rodzaju przeciwciałami możliwe stało się lepsze poznanie struktury antygenowej chorobotwórczych bakterii i wirusów. To zaś umożliwiło udoskonalenie podziałów klasyfikacyjnych tych drobnoustrojów (35). Przeciwciała monoklonalne przyczyniły się też do poprawy metod serologicznych, stosowanych w rozpoznawaniu chorób zakaźnych (6, 10). Umożliwiły m.in. różnicowanie infekcji, wywołanych przez drobnoustroje antygenowo spokrewnione, takie jak np. wirus pomoru świń i wirus wirusowej biegunki bydła, zaliczane do pestiwirusów.

Coraz szersze zastosowanie w rozpoznawaniu chorób zakaźnych znajduje test immunoenzymatyczny – ELISA (4, 36, 44, 50, 56). Jego istota polega na wykrywaniu połączeń przeciwciała z antygenem przy użyciu układu wskaźnikowego, w którym wyzwalana jest, dzięki obecnemu enzymowi, reakcja barwna. Intensywność zabarwienia może być mierzona spektrofotometrycznie, a wynik kalkulowany i rejestrowany w komputerze. Test umożliwia wprowadzenie automatyzacji i ograniczenie udziału pracy ludzkiej. Służy zarówno do wykrywania antygenów, jak też przeciwciał. Cechuje się czułością szczególnie wysokiego stopnia (1). Ta właściwość pozwala m.in. na zastąpienie surowicy, jako źródła przeciwciał, mlekiem, w którym jest z reguły mniej przeciwciał. Fakt ten umożliwia wykonywanie na dużą skalę przeglądów serologicznych

przy użyciu na przykład tych samych próbek mleka równocześnie w kierunku brucelozы i enzoptycznej białaczki bydła (15, 16). W takiej sytuacji koszty są niewspółmiernie mniejsze niż w przypadku badania surowicy. Oprócz tego unika się pobierania krwi, co może się przyczyniać do rozprzestrzeniania chorób zakaźnych. Coraz szersze stosowanie ELISA można zatem uznać za istotny element w usprawnieniu diagnostyki chorób zakaźnych, a co za tym idzie w udoskonaleniu ich zwalczania. Biorąc pod uwagę prostotę wykonania testu oraz gotowe zestawy ELISA – możliwe jest posługiwanie się tą metodą nawet w skromnie wyposażonym laboratorium.

Opracowane techniki sekwencjonowania DNA drobnoustrojów (19) stworzyły możliwości rozróżniania w obrębie ustalonych gatunków lub serotypów ich odmian – na podstawie różnic sekwencji nukleotydów, co jest możliwe do uwidocznienia i rejestracji. Wykorzystując te dane osiągnięto znaczny postęp w wykrywaniu w materiale badanym typowych dla czynnika chorobowego odcinków kwasów nukleinowych. Pomocne w tym względzie okazały się metody hybrydyzacji i reakcja polimeryzacji łańcuchowej (12, 17, 18, 31, 43, 57).

Istotą hybrydyzacji (17, 39) jest wiązanie się komplementarnej sekwencji nukleotydów sondy, czyli odcinka znakowanego DNA o wiadomej budowie chemicznej, z sekwencją nukleotydów poszukiwanego odcinka kwasu nukleinowego. Łączenie w procesie hybrydyzacji dwóch pojedynczych, komplementarnych łańcuchów polinukleotydowych badanej bakterii lub wirusa cechuje najwyższego stopnia specyficzność. W przypadku obecności w badanej próbce kwasu nukleinowego danego drobnoustroju może on zatem być wykryty przez zastosowanie znakowanej sondy genetycznej, która wiąże się w swoisty sposób z tym kwasem nukleinowym. Hybrydyzacja może być uwidoczniiona przy pomocy radioaktywnego izotopu lub, co ma miejsce coraz częściej, wyzwalanej enzymatycznie reakcji barwnej (24).

Zastosowanie znalazło szereg odmian hybrydyzacji (24), jak: hybrydyzacja punktowa, Southern blot, Northern blot i hybrydyzacja *in situ*. Są one obecnie dość szeroko stosowane jako metody diagnostyki chorób wirusowych i bakteryjnych (35, 39). Rozpoznawane może być tymi sposobami zakaźne zapalenie torby Fabrycjusza, wirusowa biegunka bydła, pomór świń, choroba Aujeszkyego, infekcje wywołane przez rotawirusy, riketsje, leptospiry, salmonelle.

Reakcja polimeryzacji łańcuchowej – PCR (28, 29, 39, 51) stanowi test od kilku lat szczególnie szeroko stosowany w identyfikacji swoistego kwasu nukleinowego drobnoustrojów chorobotwórczych, zwłaszcza wtedy, kiedy znajduje się on w bardzo małej ilości, niewykrywalnej innymi metodami. Istota testu polega na amplifikacji (powielaniu) wybranego odcinka DNA (100 – 3000 par zasad) z wykorzystaniem mieszaniny czterech nukleotydów, polimerazy DNA i krótkich syntetycznych oligonukleotydów o wielkości 20 – 30 nukleotydów, zwanych starterami (primers). Każda kolejna reakcja PCR jest cykliczna, po pierwszej syntezie następuje denaturacja, hybrydyzacja primerów oraz elongacja nici DNA. W każdym cyklu następuje podwojenie liczby kopii danej sekwencji, w związku z czym teoretycznie po 20 cyklach liczba kopii DNA może wynosić ponad 10 000 000. Analizy efektywności amplifikacji dokonuje się przy pomocy elektroforezy na żelu agarowym. Bardziej precyzyjną metodą oceny amplifikacji, uwzględniającą jej swoistość, jest hybrydyzacja z sondą molekularną.

Przedstawiona metoda znalazła m.in. zastosowanie do odróżniania enterotoksycznych szczepów *E. coli* od nieenteroto-

ksycznych (54). Pozwala ona na wykrycie zakażeń utajonych (7, 21). Identyfikuje małe ilości drobnoustrojów w kale lub tkankach (23, 41). PCR otwiera nowe możliwości w odniesieniu do szeregu nie rozwiązanych dotychczas problemów diagnostyki chorób zakaźnych, w których tak metody klasycznej izolacji i identyfikacji zarazka, jak też metody diagnostyki serologicznej bądź nie dostarczają żadnych wyników, bądź na wyniki trzeba długo czekać (9, 13).

Dzięki sporządzeniu dokładnych map genomu bakterii i wirusów oraz zastosowaniu enzymów restrykcyjnych udało się izolować materiał genetyczny, zawierający informacje dla wytwarzania pożądanych właściwości, np. antygenów uodporniających, jak też inkorporować go do genomów innych drobnoustrojów czyli wektorów (5, 55). W ten sposób opracowano m.in. technologię produkcji szczepionki przeciw pryszczycy po rekombinacji odpowiedniego odcinka DNA wirusa pryszczycy z DMA plazmidu *Escherichia coli*. Oprócz *E. coli* zostały wykorzystane do produkcji szczepionek rekombinowanych także wektory, jak wirus krowianki (34) lub *Baculovirus* (37). Dużą zaletą w ten sposób otrzymywanych biopreparatów jest brak jakiegokolwiek resztkowej chorobotwórczości ze strony drobnoustroju, przeciw któremu następuje uodpornienie. Może się ona natomiast ujawnić przy stosowaniu szczepionek ze szczepami atenuowanymi. Jak wiadomo, atenuacja z reguły nie w pełni pozbawia drobnoustrojów właściwości chorobotwórczych; w grę wchodzi również możliwość rewersji (53). Niestety, niektóre szczepionki rekombinowane (np. przeciw pryszczycy) z uwagi na raczej małą immunogenność, mimo wspomnianej zalety nieszkodliwości, nie są w immunoprofilaktyce wykorzystywane. Inne natomiast, jak np. doustna szczepionka rekombinowana przeciw wściekliźnie lisów, okazały się skuteczne i znalazły szerokie zastosowanie w praktyce (11).

Dużym osiągnięciem o znaczeniu praktycznym są szczepionki delecyjne (5). Dzięki odpowiednim enzymom restrykcyjnym pozbawia się genom wchodzącego w ich skład wirusa lub bakterii tych odcinków kwasu nukleinowego, które zawierają informację związaną z chorobotwórczością. Są to zatem szczepionki nieszkodliwe. Do tej grupy należy stosowana obecnie szczepionka przeciw chorobie Aujeszkiego (26, 49). Oprócz nieszkodliwości umożliwia ona odróżnianie przy pomocy metod serologicznych (ELISA) zwierząt szczepionych np. przeciw chorobie Aujeszkiego od zwierząt zakażonych takimi szczepami terenowymi, które nie powodują objawów klinicznych (48). Występowanie odmian drobnoustrojów chorobotwórczych o małej patogenności, powodujących infekcje o przebiegu bezobjawowym, ma miejsce w przypadku szeregu innych chorób zakaźnych, m.in. klasycznego pomoru świń (47). Fakt ten ma poważne reperkusje. Unia Europejska wprowadziła bowiem w 1992 r. zakaz czynnego uodporniania świń przeciw pomorowi. Uniemożliwia ono bowiem odróżnianie zwierząt uodpornianych czynnie od naturalnie zakażonych, ale nie wykazujących objawów chorobowych. Nie dysponujemy, jak dotychczas, szczepionką delecyjną przeciw pomorowi. Gdyby natomiast była dostępna taka szczepionka, jak w przypadku choroby Aujeszkiego, zakaz ten nie w pełni byłby uzasadniony. Istniałaby bowiem możliwość różnicowania osobników szczepionych od zakażonych naturalnie. Zrealizowanie takiej możliwości, w odniesieniu do pomoru świń, byłoby istotne, gdyż fakt zakazu szczepień ochronnych (pod groźbą utraty eksportu) sprzyja niekiedy szerzeniu się pomoru w populacji trzody chlewnej danego państwa. Ma to zwłaszcza miejsce w przypadku małej sprawności państwowej służ-

by weterynaryjnej i ograniczonych środków, przeznaczonych na akcję zwalczania. W takiej sytuacji szczepienia ochronne, zwłaszcza dużych skupisk trzody chlewnej, stosowane okresowo, miałyby skutek pozytywny.

W szeregu ośrodków naukowych (INRA, Francja, Biotechnological Research Council – Institute of Animal Health, Compton, Wielka Brytania) trwają aktualnie intensywne badania, zmierzające do uzyskania zwierząt transgenicznych (20). Są to zwierzęta, którym wprowadza się możliwie najwcześniej po połączeniu się DNA komórki jajowej i plemnika do ich genomu obcy materiał genetyczny, zawierający określone informacje. Dotyczą one m.in. zwiększenia w ten sposób odporności na choroby zakaźne. Gdyby ten kierunek badań okazał się owocny, przypuszczalnie można by było zastąpić obecne metody immunoprofilaktyki metodami opartymi na manipulacji DNA. Zmierzałaby ona do otrzymywania osobników odpornych na choroby zakaźne z pominięciem szczepień ochronnych. Być może droga ta umożliwiłaby też uzyskanie osobników opornych na choroby nowotworowe, co miałyby szczególne znaczenie w medycynie ludzkiej.

Rola OIE w zwalczaniu chorób listy A i B

Do głównych zadań OIE należy inspirowanie, promocja i koordynacja w skali międzynarodowej prac naukowo-badawczych dotyczących klasycznych chorób zaraźliwych zwierząt. Wymieniona organizacja formułuje też zasady, względnie normy ich profilaktyki i zwalczania. Zawarte są one w Kodeksie Zoosanitarnym redagowanym przez Komisję Kodeksu Zoosanitarnego.

Równie ważnym obszarem działalności OIE jest standaryzacja metod rozpoznawania chorób listy A i B oraz kontroli nieszkodliwości i skuteczności szczepionek. Czynności z tym związane wykonuje Komisja Standardów OIE, której od 1973 r. byłem wiceprzewodniczącym, a od 1982 r. jestem przewodniczącym.

Wiadomo, że bez ujednoczenia metod diagnostycznych i oceny szczepionek, mimo znacznego postępu naukowego, który przedstawiono poprzednio, niemożliwe jest osiągnięcie w skali globalnej pełnych efektów w przeciwdziałaniu szerzeniu się chorób zaraźliwych. Harmonizacja metod diagnostycznych jest szczególnie ważna przy obrocie zwierzętami między poszczególnymi państwami kuli ziemskiej. Ogranicza bowiem uzyskiwanie różnych wyników przy badaniu tego samego materiału w różnych laboratoriach.

Do zadań Komisji Standardów OIE należy zatem wybór oraz propozycja, skierowana do odpowiednich ośrodków wszystkich państw kuli ziemskiej, używania rekomendowanych przez nią metod diagnostyki laboratoryjnej, przy istnieniu – w odniesieniu do danej choroby – z reguły kilku możliwości. Biorąc pod uwagę potrzebę ujednoczenia metod został opracowany przez Komisję Standardów i wydany przez OIE w 1992 r. Podręcznik Standardów dla Testów Diagnostycznych i Szczepionek (33). Zawiera on zbiór zalecanych do stosowania testów diagnostycznych, a w szeregu przypadków też testów alternatywnych o mniejszym znaczeniu, do rozpoznawania chorób zakaźnych listy A i B. Ilustruje to tabela 1. Upowszechnienie wymienionego podręcznika w skali międzynarodowej oraz zalecenie stosowania w diagnostyce laboratoryjnej zawartych tam testów diagnostycznych stanowi istotny krok w kierunku ujednoczenia diagnostyki ważniejszych chorób zaraźliwych. Jest to w epizootologii współczesnej osiągnięcie o znaczeniu fundamentalnym.

Tab. 1. Laboratoryjne testy diagnostyczne: zalecane, alternatywne i pozostałe – do stosowania w obrocie międzynarodowym zwierząt (uwzględniające niektóre choroby listy A i B, 33)

Rodzaj choroby	Test zalecany	Test alternatywny	Test o najmniejszym znaczeniu diagnostycznym
Pryszczycza	ELISA, VN	CF	–
Choroba pęcherzykowa świń	VN	ELISA	–
Pomór świń	NPLA, FAVN, ELISA	–	–
Rzekomy pomór drobiu	–	HI	–
Choroba Aujeszkyego	ELISA, VN	–	–
Wścieklizna	–	Identyfikacja czynnika chorobowego	–
Bruceloza bydła	BBAT, CF	ELISA	Agg
Gruźlica bydła	Próba tuberkuliniwa	–	–
Enzootyczna białaczka bydła	AGID, ELISA	–	–
Niedokrwiistość zakaźna koni	AGID	–	ELISA
Wirusowe zapalenie tętnic koni	VP	–	–
Zakaźne zapalenie oskrzeli kur	–	VN, HI	ELISA

Objaśnienia: BBAT – aglutynacja płytowa z antygenem zbuforowanym *B. abortus*, Agg – aglutynacja próbkowa, AGID – immunodyfuzja w żelu agarowym, CF – odczyn wiązania dopełniacza, ELISA – odczyn enzymatycznej immunoabsorpcji, FAVN – immunofluorescencyjny test seroneutralizacji wirusa, HI – test zahamowania hemaglutynacji, NPLA – peroksydazowy test seroneutralizacji, VN – test seroneutralizacji wirusa

Niezbędnym warunkiem standaryzacji metod jest dysponowanie odpowiednimi standardami, a zwłaszcza minimalnie dodatkimi surowicami standardowymi (33). Liczba tego rodzaju preparatów jest obecnie niedostateczna. W celu uzyskania standardów w odniesieniu do szeregu chorób niezbędne jest organizowanie międzynarodowych laboratoriów referencyjnych. W wyniku starań ze strony OIE – powstają one przy renomowanych naukowo-badawczych instytutach resortowych; przy Instytucie Weterynarii w Puławach zorganizowano takie laboratorium do spraw pomoru świń.

Do zadań laboratoriów referencyjnych OIE należy standaryzacja metod rozpoznawania chorób zaraźliwych listy A i B. Z reguły jedno międzynarodowe laboratorium referencyjne zajmuje się jedną chorobą zaraźliwą, rzadziej dwiema lub trzema pokrewnymi. Jest ono powoływane dla potrzeb szeregu państw, a nawet całego kontynentu. Kolejnym zadaniem takiego laboratorium jest opracowywanie standardów używanych do ujednoczenia metod diagnostycznych we wszystkich pracowniach, które się tymi metodami posługują. Do jego obowiązków należy też produkcja oraz dystrybucja tychże standardów do laboratoriów innych państw, w których znajdują się krajowe centra referencyjne. Laboratoria referencyjne OIE udzielają konsultacji naukowych oraz organizują kursy doskonalące lub staże naukowe. Przekazują również do OIE informacje o znaczeniu epizootologicznym. Koordynują wspólne prace badawcze w skali międzynarodowej. Aktualnie w od-

powiednich międzynarodowych laboratoriach referencyjnych opracowywane są standaryzowane testy ELISA do rozpoznawania pryszczycy, brucelozy bydła, księgosuszu, księgosuszu małych przeżuwaczy, afrykańskiego pomoru koni, otrętu bydła, pomoru świń i choroby sinego języka (bluetongue, 33).

Podsumowując wymienioną działalność OIE, a zwłaszcza Komisji Standardów, można stwierdzić, że w istotnym stopniu przyczynia się ona do wdrażania do praktyki osiągnięć naukowych z zakresu problematyki dotyczącej rozpoznawania i zwalczania chorób zaraźliwych. Rośnie też jej współpraca z powołaną niedawno w ramach OIE grupą roboczą do spraw biotechnologii, gdyż ten kierunek, jak starano się przedstawić w referacie, posiada podstawowe znaczenie dla doskonalenia tak rozpoznawania, jak też zwalczania chorób zaraźliwych.

Konkludując wolno stwierdzić, iż w przedstawionej problematyce naukowo-badawczej oraz standaryzacji metod diagnostyki chorób zaraźliwych bierze udział też lubelsko-puławski ośrodek nauk weterynaryjnych dzięki czynnemu uczestnictwu w pracach Komisji Standardów OIE oraz szeroko zakrojonej działalności naukowo-badawczej, zmierzającej do doskonalenia metod rozpoznawania i zwalczania chorób zakaźnych, w tym również coraz częściej w oparciu o metody biotechnologii.

Piśmiennictwo

- Anderson J.: *J. Immunol. Meth.* 74, 139, 1984.
- Animal Health in the Eighties. Office International des Epizooties, 1990.
- Arthur C. P., Louzis C.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 7, 937, 1988.
- Bech-Nielsen S., Shulaw W. P., Frandsen P. L., Berg Jorgensen J., Ahrens P., Feld N. C.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12, 2, 617, 1993.
- Blancou J.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 9, 3, 641, 1990.
- Brocchi E., Gamba D., Poumarat F., Martel J. L., De Simone F.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12, 2, 559, 1993.
- Brown T. M., Osorio F. A., Rock D. L.: *Vet. Microbiol.* 24, 273, 1990.
- Bulletin. Office International des Epizooties, Paris, 10, 1993.
- Cousins D. V., Wilton S. D., Francis B. R.: *Vet. Microbiol.* 27, 187, 1991.
- Crowther J. F.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12, 2, 369, 1993.
- Desmetre P., Languet B., Chappuis G., Brochier B., Thomas I., Lecocq J. P., Kiény M. P., Blancou J., Aubert M., Artois M., Pastoret P. P.: *Vet. Microbiol.* 23, 227, 1990.
- Erlich H. A., Gelfand D., Sinsky J. J.: *Science* 252, 1643, 1991.
- Fekete A., Bantle J. A., Halling S. M.: *J. Vet. Diagn. Invest.* 4, 79, 1992.
- Final Report, 61st General Session 24-28 May 1993.
- Forschner E., Bünger I.: *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 93, 105, 1986.
- Forschner E., Bünger I., Krause M. P., Küttler D.: *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 96, 473, 1989.
- Gillespie D.: *Vet. Microbiol.* 24, 217, 1990.
- Gingeras T. R., Richman D. D., Kwoh D. Y., Guatelli J. C.: *Vet. Microbiol.* 24, 235, 1990.
- Gorziglia M., Nishikawa K., Green K., Taniucki K.: *Nucleic Acid. Res.* 16, 775, 1988.
- Hammer R. E., Pursel V. G., Rexroad C. E., Wall R. J.: *Nature* 315, 680, 1985.
- Hooft von Iddekinge B. J. L., van Wamel J. L. B., van Gennip H. G. P., Moormann R. J. M.: *Vet. Microbiol.* 30, 21, 1992.
- International Animal Health Code. Office International des Epizooties, Paris, 1992.
- Jensen J., Aiken J., Schultz R. D.: *Can. J. Vet. Res.* 54, 256, 1990.
- Keller G. H., Manak M. M.: *DNA probes.* Stokton Press, 1989.
- Kimberlin R. H.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 11, 2, 347, 1992.
- Kit S.: *Vaccine* 8, 420, 1990.
- Köhler G., Milstein C.: *Nature* 256, 495, 1975.
- Kuźmak J., Grundboeck J.: *Medycyna Wet.* 49, 4, 151, 1993.
- Kuźmak J., Grundboeck J., Kozaczyńska B.: *Medycyna Wet.* 49, 7, 312, 1993.
- Larski Z.: *Medycyna Wet.* 50, 1, 8, 1994.
- Lew A. M., Brandon R. B., Panaccio M., Morrow C. J.: *Immunology* 5, 3, 1992.

32. Lipowski A., Kochan G., Pejsak Z., Szewczyk B.: *Medycyna Wet.* 50, 14, 1994.
33. Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines for Lists A and B Diseases of Mammals, Birds and Bees, 1992.
34. Marchioli C. C., Yencey R. J., Petrovskis E. A., Timmins J. G., Post L. E.: *J. Virol.* 61, 3977, 1987.
35. McCullough K. C.: *Archives of Virology* 87, 1, 1986.
36. McCullough K. C.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12, 2, 325, 1993.
37. McLinden J. H., Ploplis V. A., Fraser M. J., Rosen E. D.: *Vaccine* 10, 231, 1992.
38. Pejsak Z., Stadejek T.: *Mat. Sympozjum Biotechnologia Zwierząt.* Kraków, listopad 1993, s. 23.
39. Rodriguez M. Schudel A. A.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12, 2, 385, 1993.
40. Rola J., Żmudziński J.: *Mat. Sympozjum Biotechnologia Zwierząt.* Kraków, listopad 1993, s. 71.
41. Rosen B. I., Saif L. J., Jackwood D. J., Gorziglia M.: *Vet. Microbiol.* 24, 327, 1990.
42. Rożek W., Skulmowska-Kryszkowska D., Żmudziński J.: *Mat. Sympozjum Biotechnologia Zwierząt.* Kraków, listopad 1993, s. 72.
43. Schadendorf D., Czarnetzki B. M.: *J. Invest. Dermatol.* 97, 751, 1991.
44. Sørensen V., Barfod K., Feld N. C., Vraa-Andersen L.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12, 2, 593, 1993.
45. Terpstra C., Wensvoort G., Pol J.: *Vet. Quarterly* 13, 131, 1991.
46. The world organization for animal health, Office International des Epizooties, Paris, 1993.
47. Van Oirschot J. T.: Persistent and inapparent infections with swine fever virus of low virulence. Their effect on the immune system. *Praca dokt. Uniwersytet w Utrechcie*, 1980.
48. Van Oirschot J. T., Houwers D. J., Rziha H. J., Moonen P. J. L. M.: *J. Virol. Methods* 22, 191, 1988.
49. Van Oirschot J. T., Gielkens A. L. J., Moorman R. J. M., Berns A. J. M.: *Vet. Microbiol.* 23, 85, 1990.
50. Wensvoort G., Bloemraad M., Terpstra C.: *Vet. Microbiol.* 17, 129, 1988.
51. Winiarczyk S.: *Medycyna Wet.* 49, 260, 1993.
52. Winiarczyk S., Grądzki Z., Markowska-Daniel I., Pejsak Z.: *Mat. Sympozjum Biotechnologia Zwierząt.* Kraków, listopad 1993, s. 91.
53. Wiśniewski J., Siemionek J.: *Medycyna Wet.* 44, 81, 1988.
54. Woodward M. J., Carroll P. J., Wray C.: *Vet. Microbiol.* 31, 251, 1992.
55. Wray C., Woodward M. J.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 9, 3, 779, 1990.
56. Wright P. F., Nilsson E., Van Rooij E. M. A., Lelenta M., Jeggo M. H.: *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.* 12, 2, 435, 1993.
57. Xu L. Z., Larzul D.: *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 14, 299, 1991.

Adres autora: prof. dr Marian Truszczyński, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

STANISŁAW WOŁOSZYN, KRZYSZTOF KOSTRO

artykuł przeglądowy

Zakaźne zapalenie tchawicy i oskrzeli psów

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Głęboka 30, 20-709 Lublin

Upowszechnienie szczepień zapobiegawczych psów przeciwko nosówce i zakaźnemu zapaleniu wątroby pozwoliło na opanowanie tych klasycznych chorób zakaźnych, zwłaszcza w środowiskach miejskich. Jednocześnie ujawniły się mało dotychczas znane i często nierozpoznawane jednostki chorobowe, takie jak: zakaźne zapalenie tchawicy i oskrzeli (*tracheobronchitis infectiosa* – kennel cough) oraz herpeswiroza szczeniąt (*herpesvirosis* – puppies death). Zakaźne zapalenie tchawicy i oskrzeli psów jest to polietiologiczny syndrom chorobowy, manifestujący się nieżytem górnych dróg oddechowych i napadowym kaszlem (1, 25). Choroba występuje głównie w większych skupiskach psów (schroniska, zakłady tresury) i szerzy się drogą kontaktową, często też pojawia się po wystawach psów rasowych. Do występowania choroby predysponuje osłabienie rezystencji psów spowodowane przeziębieniami, inwazjami pasożytniczymi oraz stresami związanymi ze zmianą środowiska i właściciela. Do 1962 r. uważano, że czynnikiem przyczynowym choroby są słabo zjadliwe szczepy wirusa nosówki psów (12). Z uwagi jednak na to, że bardzo często chorowały psy szczepione przeciwko nosówce i zakaźnemu zapaleniu wątroby, podjęto badania nad etiologią tego syndromu. Od psów izolowano następujące zarazki: wirus parainfluenzy psów (*canine parainfluenza virus*, CPiV), adenowirusy typu 1 i 2 (*canine adeno virus* – 1, 2 CAV-1, CAV-2), reowirusy typu 1, 2 i 3 (*canine reovirus* 1, 2, 3 CRV-1, CRV-2, CRV-3), herpeswirus (*canine herpesvirus*, CHV), *Mycoplasma cynos*, *Bordetella bronchiseptica*.

CPiV wyosobniono od psów w pierwszych dniach choroby o przebiegu ostrym (9). U psów zakażonych zawiesiną aerozolu tego wirusa stwierdzono lekki stan zapalny oskrzeli

i oskrzelików, który samoistnie ustępował. Proces miał charakter miejscowy, nie dochodziło do wirēmii. Wirusa reizolowano od psów do 9 dnia po zakażeniu. Mimo łagodnego przebiegu choroba szerzyła się drogą kontaktową w schronisku, w którym przeprowadzono doświadczenie (21). Warto podkreślić, iż wirus ten u szczeniąt może powodować zapalenie mózgu i rdzenia, które kończą się zejściem śmiertelnym. CAV-1 wywołujący zakaźne zapalenie wątroby był rzadko izolowany od psów z objawami nieżyty górnych dróg oddechowych (26). Przy zakażeniu aerogennym wywołuje on postać płucną zakaźnego zapalenia wątroby. CAV-2 jest uznany za jeden z czynników przyczynowych *tracheobronchitis* psów (12). Po zakażeniu w warunkach eksperymentalnych obserwowano u psów zapalenie gardła, migdałków, tchawicy i oskrzeli o łagodnym przebiegu, zwykle bez gorączki i osowienia. Wirusa reizolowano z dróg oddechowych i regionalnych węzłów chłonnych do 8 dnia od zakażenia. Wirus ten, jak wykazali Appel i Bemis (2), może długo utrzymywać się w nabłonku krtani, powodując miejscowe zmiany proliferacyjne. CRV-1 i CRV-2 były sporadycznie tylko wyosobniane od psów chorych i wydaje się, iż nie odgrywają one znaczącej roli w patogeniezie *tracheobronchitis* (1, 26). Stosunkowo często natomiast, szczególnie w krajach zachodnioeuropejskich, stwierdzano zakażenia spowodowane przez CRV-3. U psów zakażonych w warunkach doświadczalnych obserwowano stan zapalny błony śluzowej nosa połączony z wyciekami śluzowo-surowiczym, kilkudniową gorączkę i pojedynczy kaszel.

Nikitin i wsp. (18) oraz Massie i wsp. (16) wykazali występowanie przeciwciał dla tego wirusa w surowicach psów z wielu krajów. CHV stwierdzano tak u szczeniąt, jak u psów