

Europie i dlatego w aspekcie ochrony zdrowia człowieka, w pierwszej kolejności powinno się podejmować działania profilaktyczne, polegające na zapobieganiu atakowania przez kleszcze (12, 15). Osoby przebywające na obszarach leśnych, w których kleszcze występują licznie powinny nosić odpowiednie ubranie (zakrywające ręce i nogi); odzież i buty powinny być impregnowane odpowiednim repelentem np. dietylotoluena-midem. Repelenty mogą być stosowane bezpośrednio na skórę by zapobiec przyczepianiu się kleszczy. W przypadku, gdy kleszcz przyczepił się już do skóry, przed jego usunięciem należy pokryć go grubą warstwą tłuszczu, gliceryny, benzyną lub eterem. Sposób ten ułatwia odczepienie kleszcza i usunięcie go w całości. W zwalczaniu kleszczy w środowisku naturalnym, najbardziej efektywną jest metoda chemiczna z użyciem odpowiedniego środka kleszczo-bójczego (akarycydu), w minimalnych lecz skutecznych dawkach. Ze względu na ochronę środowiska naturalnego, metodę chemiczną powinno się stosować jedynie w przypadkach niezbędnie koniecznych (12). Znaczną redukcję populacji *Ixodes ricinus* na ograniczonym obszarze można uzyskać również przez sukcesywne usuwanie drogą mechaniczną kleszczy przyssanych do bydła. Jest to zabieg łatwy do wykonania i godny polecenia, gdyż niszczy przede wszystkim samice, nie dopuszczając do złożenia przez nie jaj, a jednocześnie nie stanowi żadnego zagrożenia dla środowiska naturalnego (12, 15). W lasach, w których stwierdzono istnienie naturalnych ognisk endemicznych k.z.m., w okresach wzmożonej aktywności kleszczy, na skraju lasów powinno się umieszczać tablice ostrzegające o możliwości zakażenia się ludzi przez kleszcze. Zwiększenie odporności drogą czynnego uodpornienia (szczepienie) zalecane jest osobom przebywającym na terenach o nasilonym występowaniu kleszczowego zapalenia mózgu.

Piśmiennictwo

1. Abstract Book 2-nd International Symposium on Tick-Borne Encephalitis. Baden/Vienna, 6-7 June, 1991.
2. Anon.: Weekly epidemiol. rec. 19, 140, 1994.
3. Biuletyn PZH i MZiOŚ dotyczące występowania chorób zakaźnych i zatruc w Polsce w latach 1970-1994.
4. Bobrowska E., Prokopowicz D., Pytel B.: Przegl. Epidemiol. 46, 11, 1993.
5. Cisak E., Umiński J., Barycki J.: Badania serologiczne w kierunku kleszczowego zapalenia mózgu (KZM) u pacjentów ze zmianami neurologicznymi. Materiały międzynarodowego sympozjum nt. Borelioza z Lyme i inne choroby przenoszone przez kleszcze. Białowieża, 28-29 kwietnia, 1995 (w druku).
6. Gall W.: Problemy ekologii i profilaktyki w ogniskach przyrodniczych kleszczowego zapalenia mózgu. Praca hab. Roczn. Wojsk. Inst. Hig. i Epidemiol. 12, 60, 1973.
7. Kunz Ch. (red.): Tick-Borne Encephalitis, International Symposium. Baden/Vienna, 19-20 October, 1979.
8. Magdzik W. (red.): Choroby zakaźne i pasożytnicze zapobieganie i zwalczanie, PZWŁ, Warszawa, 1993.
9. Prokopowicz D.: Med. Wiejska 29, 117, 1994.
10. Siuda K.: Kleszcze Polski (Acari: Ixodida), Pol. Tow. Parazytol., Warszawa, 1993.
11. Umiński J., Cisak E., Badora J., Barycki J., Zwoliński J.: Badania serologiczne w kierunku kleszczowego zapalenia mózgu u pracowników leśnictwa i rolników z makroregionu lubelskiego. Ref. wygł. na symp. nt. Zagrożenia zdrowotne w środowisku pracy, Łódź, 3-5 listopada, 1994.
12. Wegner Z.: Med. Ogólna (w druku).
13. Wróblewska-Mularczykowska Z., Dobrzyński L., Olkowska D., Magdzik W., Załęska H.: Przegl. Epidemiol. 22, 501, 1968.
14. Wróblewska-Mularczykowska Z., Zabicka J., Nawrocka E., Olkowska D., Taytsch-Kapulkin F. Z.: Acta Microbiol. Polon. 22, 123, 1973.
15. Zabicka J.: Kleszczowe zapalenie mózgu. Ref. wygł. na II Symp. Klin. IMW nt. Kleszczowe zapalenie mózgu oraz nadciśnienie tętnicze, Lublin, 9 kwietnia 1994.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Umiński, ul. Jaczewskiego 2, 20-950 Lublin

JERZY ROLA, JAN ŻMUDZIŃSKI

artykuł przeglądowy

Rozpoznawanie i zwalczanie zakażeń wirusem BHV 1

Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Herpeswirus bydlęcy typ 1 (BHV 1) zwany potocznie wirusem zapalenia nosa i tchawicy oraz otrętu bydła (IBR/IPV) należy do rodziny *Herpesviridae*, podrodziny *Alphaherpesvirinae* (24, 25). Zakażenie wirusem BHV 1 może przebiegać w postaci: zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy, otrętu, zapalenia spojówek, zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego, poronień, zapalenia wymienia, zakażeń przewodu pokarmowego (4, 6, 7, 9, 11, 12, 14, 22, 28).

Spośród wymienionych postaci klinicznych zakażenia wirusem BHV 1 najwcześniej zaobserwowano postać pociową, czyli otręt. Forma ta znana już była w Europie w połowie ubiegłego stulecia, głównie w Niemczech i we Francji. Została opisana po raz pierwszy przez Rychnera w 1841 r. (36). W 1928 r. Reisinger i Reiman (23) wskazywali na wirusową naturę choroby. Forma oddechowa natomiast zaobserwowana została w USA, w stanie Colorado, w 1950 r. (20). W 1956 r. Madin i wsp. (19) wyizolowali wirus IBR odpowiedzialny za zachorowania, a w 1959 r. Gillespie i wsp. (10) stwierdzili,

iż obydwie formy kliniczne zakażenia wywoływane są przez ten sam wirus określony później jako wirus IBR/IPV.

Zakaźne zapalenie nosa i tchawicy – pierwszym objawem zachorowania jest gorączka 40,5-42°C oraz obfite ślinienie. Następnie pojawiają się objawy ogólne w postaci braku łaknienia, ogólnego osłabienia, depresji i wyraźnego spadku produkcji mleka u krów. Rozwija się obustronny wypływ z nosa, a błona śluzowa nozdrzy staje się przekrwiona. W miarę postępu choroby wypływ staje się śluzoworopny, a na błonie śluzowej nosa i śluzawicy tworzą się naloty dyfteroidalne oraz strupy. Objawom tym towarzyszy kaszel i duszność. Ostra faza choroby trwa zazwyczaj 5 do 10 dni, po których większość zwierząt zdrowieje. W przypadku powikłań bakteryjnych dochodzi do zapalenia płuc i zejść śmiertelnych.

Otręt. Okres inkubacji wynosi od 1 do 3 dni. U samicy proces chorobowy dotyczy błony śluzowej sromu i pochwy. Pierwszymi charakterystycznymi objawami jest widoczna bo-

lesność przy częstym oddawaniu moczu oraz odstawanie ogona. Na zaczerwienionej i przekrwionej błonie śluzowej pojawiają się pęcherzyki barwy żółtoszarej, które zlewając się tworzą nadżerki i owrzodzenia pokryte śluzoworopną wydzieliną. Objawom miejscowym towarzyszy wzrost ciepłoty ciała do 41°C. Z reguły po 10-14 dniach od wystąpienia objawów dochodzi do samowyleczenia. W niektórych przypadkach, głównie na skutek wtórnych zakażeń bakteryjnych, dochodzi do jałowoci u krów względnie do zaburzeń w cyklach rozrodczych.

U samców proces chorobowy dotyczy błony śluzowej napletka i żołądźci prącia. W początkowym okresie zauważalna jest wyraźna niechęć do krycia. Zmiany chorobowe są podobne do zmian opisanych u krów. W niepowikłanych przypadkach zdrowienie następuje w ciągu 10-14 dni. W cięższych przypadkach tworzą się rozległe owrzodzenia pokryte śluzoworopnym wysiękiem. Następstwem tych zmian są skrzywienia i zrosty prącia oraz pierścieniowate zwężenia napletka (stulejka).

Zapalenie spojówek. Zazwyczaj jest obustronne i charakteryzuje się ich obrzękiem i zaczerwienieniem. Bardzo szybko dołącza się łzawienie, światłowstręt i surowiczowo-śluzowo-ropny wypływ z oczu. Schorzenie przebiega zwykle bezgorączkowo, a objawy ustępują w ciągu 5-10 dni. Jedno lub dwustronne zapalenie spojówek połączone z obfitym łzotokiem jest powszechnym objawem u bydła z typowym IBR.

Zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego. Występuje przeważnie u młodego bydła w wieku 5-7 miesięcy. Objawia się wzrostem ciepłoty ciała do 42°C, brakiem apetytu, ogólnym osłabieniem. Po 4-5 dniach dołączają się objawy ze strony układu nerwowego, w postaci początkowo nieznacznego braku koordynacji ruchowej, który pogłębia się aż do całkowitej ataksji. Leżące zwierzęta wykazują na przemian okresy podniecenia i depresji, którym towarzyszy szczękocisk, oczopląs, ślepotę oraz kloniczne skurcze mięśni nóg, szyi, łędźwi. Choroba kończy się zejściem śmiertelnym w ciągu 6-7 dni wśród objawów śpiączki.

Ronienia. Występują zazwyczaj między 4 a 7 miesiącem ciąży i są następstwem obumarcia płodu. Ronienie następuje bez widocznych objawów zwiastunowych głównie u pierwiastek. Poronione płody nie wykazują charakterystycznych zmian anatomicopatologicznych, co najwyżej drobne ogniska martwicze w wątrobie i śledzionie. Często dochodzi do zatrzymania łożyska.

Zapalenie wymienia. Występują stosunkowo rzadko i mają charakter zapalenia nieżyłowego.

Zakażenia przewodu pokarmowego. Również ta forma występuje rzadko. Charakteryzuje się stanem zapalnym jelit grubych głównie tylnej części okrężnicy i prostnicy. Objawia się w postaci biegunki, która u cieląt bardzo często jest przyczyną zejść śmiertelnych, podczas gdy u dorosłego bydła ma przebieg łagodny.

Rozpoznanie opisanych postaci klinicznych zakażenia wirusem BHV 1 opiera się na badaniu klinicznym oraz laboratoryjnym, które ostatecznie weryfikuje diagnozę kliniczną. Badania laboratoryjne obejmują badania wirusologiczne, których celem jest izolacja wirusa i jego identyfikacja oraz badania serologiczne wykrywające specyficzne przeciwciała. Rodzaj próbek materiału zakaźnego przesyłanego do badania wirusologicznego zależy od postaci klinicznej schorzenia. Od zwierząt z formą oddechową należy przesyłać wymazy z nosa pobrane możliwie w najwcześniejszym stadium choroby. Przy zapaleniu spojówek przesyła się wymazy z worka spojówkowego. Przy formie nerwowej pobiera się wycinki mózgu i rdzenia

kręgowego bezpośrednio po zejściu śmiertelnym lub uboju diagnostycznym. W przypadku poronień u krów do badania pobiera się wycinki narządów wewnętrznych poronionego płodu (płuca, śledziona, wątroba) oraz fragmenty łożyska. Przy otręciu u krów do badania pobiera się wypłuczyny względnie wymazy z pochwy, zaś od buhajów wymazy lub wypłuczyny z worka napletkowego oraz nasienie. Izolację wirusa prowadzi się w pierwotnej hodowli komórek jądra względnie nerki cielęciny, lub w hodowli komórek linii ciągłych np. MDBK, GBK. Badanym materiałem zakaża się jednowarstwową hodowlę komórek, która następnie kontrolowana jest codziennie przez 7 dni na wystąpienie efektu cytopatycznego charakterystycznego dla wirusa BHV 1. Wyizolowany wirus identyfikowany jest w odczynie immunofluorescencji lub w odczynie seroneutralizacji. Więcej trudności sprawia izolacja wirusa z nasienia buhajów. Nasienie jest toksyczne dla hodowli komórek i dlatego musi być wstępnie rozcieńczone. Dodatkowo w piśmiennictwie dotyczącym wirusa BHV 1 istnieją doniesienia świadczące, że metoda ta nie jest wystarczająco czuła aby wykrywać małe koncentracje wirusa BHV 1 (5, 17). Testem alternatywnym do testu izolacji wirusa *in vitro* służącym do wykrywania obecności wirusa BHV 1 w nasieniu jest test określany jako „Cornell Semen Test” (27). Polega on na dożylnym zakażeniu serologicznie ujemnych jałówek zbiorczą próbką nasienia pochodzącą od badanych buhajów. Po upływie 2-3 tyg. od zakażenia zwierzęta badane są serologicznie na obecność przeciwciał dla wirusa BHV 1. Wykrycie przeciwciał anty BHV 1 świadczy o zakażeniu nasienia badanych buhajów wirusem. Ponadto aktualnie prowadzone są badania nad zastosowaniem do tego celu reakcji PCR. Technika ta ze względu na swoją wysoką czułość wydaje się być optymalna dla potwierdzenia lub wykluczenia obecności wirusa BHV 1 w nasieniu buhajów (33, 35).

Badania serologiczne wykrywają swoiste dla wirusa przeciwciała. Powszechnie zalecanym testem serologicznym jest odczyn seroneutralizacji. Wykonuje się go sporządzając rozcieńczenia badanej, zainaktywowanej surowicy w postępie geometrycznym począwszy od 1:2 i dodając do każdego rozcieńczenia zawiesinę wirusa w dawce 100 TCID₅₀. Mieszanie surowicy i wirusa inkubuje się przez 60 min. w 37°C, a następnie każdym rozcieńczeniem zakaża się hodowlę komórek. Hodowla obserwowana jest przez 3-5 dni. Wystąpienie efektu cytopatycznego oznacza, że badana surowica nie zawierała przeciwciał dla wirusa zaś jego brak oznacza obecność swoistych przeciwciał, a tym samym świadczy o zakażeniu badanego zwierzęcia wirusem IBR/IPV. Drugim testem serologicznym szeroko oferowanym jest test ELISA. Gotowe do użycia zestawy oferowane są przez różne firmy diagnostyczne. Oba wymienione testy zalecane są do badań przez Komisję Standardów Międzynarodowego Urzędu ds. Epizootii (21).

Ze względu na duże rozprzestrzenienie wirusa BHV 1 w populacji bydła stosowane w większości krajów programy kontroli zakażeń BHV 1 oparte są na szczepieniach. Początkowo były to szczepionki żywe atenuowane do stosowania domięśniowego, następnie żywe atenuowane do stosowania donosowego, inaktywowane, podjednostkowe, a ostatnio szczepionki delecyjne. Pierwszą handlową szczepionką domięśniową uzyskano ze szczepu Colorado, który atenuowano wykonując serię szybkich pasażów w hodowli pierwotnej komórek nerki cielęcej (26). Główną zaletą tej klasy szczepionek jest łatwość podawania oraz możliwość kojarzenia jej z innymi szczepionkami np. BVD/MD lub PI-3. Jednakże szczepionki te nie

mogły być stosowane u zwierząt ciężarnych, gdyż powodowały zakażenie płodu i jego poronienie. Ponadto ronicenia obserwowano u krów, które trzymano razem z cielętami szczepionymi tego typu szczepionką (13).

Szczepionki żywe atenuowane do stosowania donosowego są bezpieczne dla zwierząt ciężarnych. Powodują wytworzenie stanu wczesnej niewrażliwości na zakażenie szczepem terenowym IBR/IPV przez indukcję produkcji interferonu i przeciwciał wydzielniczych na powierzchni błon śluzowych. Włączenie szczepów temperaturowrażliwych (ts) zapewniło dokładnie lokalne namnażanie się wirusa oraz możliwość różnicowania szczepu „szczepionkowego” od szczepów terenowych (16). Zastosowanie szczepień donosowych może czasami prowadzić do wzrostu ciepłoty wewnętrznej ciała, surowiczego wypływu z nosa oraz okresowego spadku produkcji mleka (12).

Szczepionki inaktywowane zawierają zabity wirus IBR/IPV. Jako inaktywator stosowano najczęściej formalinę, etylenoiminę, B-propiolakton, promienie UV. W celu wzmocnienia działania immunogennego do szczepionek tych włączano adjuwanty np. kompletny adjuwant Freund'a, saponinę, wodorotlenek glinu. Zaletą szczepionki inaktywowanej jest to, że nie powoduje poronień u zwierząt ciężarnych, brak jest wydalania wirusa szczepionkowego i nie powoduje zakażenia latentnego. Pewną niedogodnością natomiast jest konieczność dwukrotnego szczepienia, a następnie coroczne doszczepianie w celu zabezpieczenia zwierząt przed zachorowaniem.

Szczepionki podjednostkowe zawierają pojedyncze immunogenne komponenty wirusa. Jedną z pierwszych tego typu szczepionek uzyskali Darcel i wsp. (8). Zawierała ona antygeny otoczki wirusa wyekstrahowane Freonem 113. Szczepionka ta nie zabezpieczała całkowicie ciężarnych jałówek przed roniceniem w następstwie zakażenia kontrolnego wirusem BHV 1, jednakże liczba poronień była mniejsza w porównaniu do nieszczepionej grupy kontrolnej. Lupton i Reed otrzymali szczepionkę traktując wirus detergentem NP-40. Dwukrotne podanie tej szczepionki z adjuwantem Freund'a chroniło zwierzęta przed kliniczną postacią choroby i siewstwem wirusa użytego do zakażenia kontrolnego (18). Z kolei Babiuk i wsp. podjęli próby uodporniania bydła poszczególnymi glikoproteinami oczyszczonymi elektroforetycznie, chromatograficznie oraz uzyskanymi na drodze ekspresji w różnych układach wektorowych. Używając glikoprotein gB, gC, gD wirusa BHV 1 autorzy ci wykazali, że surowice immunizowanych zwierząt zawierały najwyższe miano przeciwciał neutralizujących w stosunku do glikoproteiny gD. Wykazano także, że glikoproteina ta była jedyną glikoproteiną odpowiedzialną za wyraźne zmniejszenie się replikacji i siewstwa wirusa BHV 1 u zwierząt zakażonych doświadczalnie (3, 29, 30, 31).

Szczepionki delecyjne to stosunkowo nowa klasa szczepionek uzyskiwana najczęściej na drodze inżynierii genetycznej. Van Engelenburg i wsp. (32) skonstruowali mutant delecyjnego przez usunięcie pełnego regionu kodującego glikoproteinę gE z genomu wirusa BHV 1. Ponadto uzyskali również mutant delecyjnego pozbawionego genu kinazy tymidynowej TK⁻ i mutant pozbawionego obu tych genów jednocześnie gE⁻/TK⁻. Wyselekcjonowanymi mutantami immunizowano bydło badając zjadliwość i immunogenność użytych mutantów. Stwierdzono, że mutant TK⁻ posiadał resztkową zjadliwość, podczas gdy mutanty gE⁻ i gE⁻/TK⁻ były całkowicie niezjadliwe. Jednocześnie mutant gE⁻ zabezpieczał immunizowane cielęta przed zachorowaniem po zakażeniu kontrolnym. Jednakże immunizacja mutantem gE⁻ nie eliminowała całkowicie

siewstwa wirusa, który został użyty do zakażenia kontrolnego, chociaż ilość wydalanego wirusa uległa znacznemu zmniejszeniu w porównaniu do ilości wirusa wydalanego przez zwierzęta kontrolne. Kit i wsp. (15) przeprowadzili podobne próby immunizacji bydła używając mutant TK⁻BHV 1. Zaszczepione zwierzęta rozwijały wysokie miano przeciwciał neutralizujących i nie wykazywały objawów klinicznych charakterystycznych dla IBR. Szczepienie zabezpieczało także przed zachorowaniem po donosowym zakażeniu kontrolnymi szczepami Los Angeles i Cooper wirusa BHV 1. Nie obserwowano także rewersji wirusa do formy dzikiej TK⁺. Należy zaznaczyć, że wprowadzenie szczepionek delecyjnych wiąże się z opracowaniem testu serologicznego umożliwiającego odróżnienie zwierząt uodpornionych od zakażonych wirusem zjadliwym.

Podsumowując należy stwierdzić, że dotychczasowe szczepionki przeciwko BHV 1 zabezpieczały przed wystąpieniem klinicznych postaci choroby. Redukowały także długość okresu siewstwa oraz ilość wydalanego wirusa po zakażeniu szczepem dzikim. Niestety nie doprowadzały one do eliminacji zakażenia, gdyż nie zabezpieczały przed zakażeniem latentnym szczepem terenowym. Co więcej same szczepy szczepionkowe mogą powodować zakażenie latentne. Odnosi się to także do szczepionek delecyjnych. Whetstone i wsp. (34) izolowali wirus TK⁻BHV 1 od wszystkich zwierząt zakażonych donosowo i dopochwowo po reaktywacji zakażenia latentnego podaniem dexametazonu. Dotychczas jedyną pewną metodą pozwalającą na eliminację zakażeń BHV 1 jest metoda radykalna. Polega ona na eliminacji wszystkich zwierząt serologicznie dodatnich, zaś pozostałe zwierzęta podlegają okresowym badaniom serologicznym. Metodę tą z powodzeniem zastosowały Szwajcaria, Dania, Austria i obecnie kraje te są wolne od zakażeń wirusem BHV 1 (1, 2). W Polsce zastosowanie tej metody pozwoliło osiągnąć taki sam status dla buhajów w stacjach hodowli i unasienniania zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Ackermann M., Belak S., Bitsch V., Edwards S., Moussa A., Rockborn G., Thiry E.: Vet. Microbiol. 23, 361, 1990.
2. Ackermann M., Muller H. K., Bruckner L., Kihm U.: Vet. Microbiol. 23, 365, 1990.
3. Babiuk L. A., L'italien J., Van Drunen Littel-van den Hurk S., Zamb T., Lawman M. J. P., Hughes G., Gifford G. A.: Virology 159, 57, 1987.
4. Baczyński Z., Żmudziński J.: Medycyna Wet. 39, 91, 1983.
5. Bielański A., Loewen K. G., Hare W. C. D.: Theriogenology 30, 649, 1988.
6. Buczek J., Deptuła W., Deptuła D.: Medycyna Wet. 37, 426, 1981.
7. Buczek J., Rokosz B., Wrzolek-Łobocka G.: Medycyna Wet. 37, 169, 1981.
8. Darcel C. Q., Bradley J. A., Mitchell D.: Can. J. Comp. Med. 43, 288, 1979.
9. Gibbs E. P. J., Rweyemamu M. M.: Vet. Bull. 47, 317, 1977.
10. Gillespie J. H., McEntee K., Kendrick J. W., Wagner W. C.: Cornell Vet. 49, 288, 1959.
11. Hill B. D., Hill M. W. M., Chung Y. S., Whittle R. J.: Aust. vet. J. 61, 242, 1984.
12. Kahrs R. F.: J. Am. Vet. Med. Ass. 171, 1055, 1977.
13. Kelling C. L., Schipper J. A., Strum G. E., Carlson R. B., Tilton J. E.: Cornell Vet. 63, 383, 1973.
14. Kendrick J. W., Gillespie J. H., McEntee K.: Cornell Vet. 48, 458, 1958.
15. Kit S., Qavi H., Gaines J. D., Billingsley P., McConnell S.: Arch. Virol. 87, 63, 1985.
16. Kucera C. J., White R. G., Beckenhauer W. H.: Am. J. vet. Res. 39, 607, 1978.
17. Kupferschmid H. U., Kihm U., Bachmann P., Muller K. H., Ackermann M.: Theriogenology 25, 439, 1986.
18. Lupton H. W., Reed D. E.: Am. J. vet. Res. 41, 383, 1980.
19. Madin S. H., York C. J., McKercher D. G.: Science 124, 721, 1956.
20. McKercher D. G.: Adv. vet. Sci. 5, 299, 1959.

21. OIE manual of standards for diagnostic tests and vaccines. Second edition, 1992.
22. Rebhun W. C., Smith J. S., Post J. E., Holden H. R.: Cornell Vet. 68, 297, 1978.
23. Reisinger L., Reiman H.: Wien. tierarztl. Mschr. 15, 249, 1928.
24. Roizman B.: Arch. Virol. 123, 425, 1992.
25. Roizman B., Baines J.: Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis. 14, 63, 1991.
26. Schwartz A. J. E., York C. J., Zirbel L. W., Estella L. A.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96, 453, 1957.
27. Schultz R. D., Adams L. S., Letchworth G., Sheffy B. E., Manning T., Bean B.: Theriogenology 17, 115, 1982.
28. Straub O. C.: Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis. 14, 175, 1991.
29. Van Drunen Littel-van den Hurk S., Babiuk L. A.: Virology 144, 204, 1985.
30. Van Drunen Littel-van den Hurk S., Babiuk L. A.: J. Virol. 59, 401, 1986.
31. Van Drunen Littel-van den Hurk S., Gifford G. A., Babiuk L. A.: Vaccine 8, 358, 1990.
32. Van Engelenburg F. A. C., Kaashoek M. J., Rijsewijk F. A. M., Van den Burg L., Moerman A., Gielkens A. L. J., Van Oirschot J. T.: J. gen. Virol. 75, 2311, 1994.
33. Van Engelenburg F. A. C., Maes R. K., Van Oirschot J. T., Rijsewijk F. A. M.: J. of Clinical Microbiology 31, 3129, 1993.
34. Whetstone C. A., Miller J. M., Seal B. S., Bello L. J., Lawrence W. C.: Arch. Virol. 122, 207, 1992.
35. Wiedman M., Brandon R.: J. Virol. Methods 44, 129, 1993.
36. Wittmann G.: Herpesvirus diseases of cattle, horses and pigs. Kluwer Academic Publishers, 1989.

Adres autora: dr Jerzy Rola, ul. Kościuszki 19/16, 24-100 Puławy

MAREK LIPIEC

artykuł przeglądowy

Testy aktualnie stosowane w rozpoznawaniu paratuberkulozy bydła

Pracownia Immunologii Gruźlicy Państwowego Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Paratuberkuloza (choroba Johnego) jest przewlekłą chorobą przeżuwaczy wywołaną przez *Mycobacterium paratuberculosis*. Zarazek wykazuje powinowactwo do błony śluzowej i podśluzowej jelit gdzie namnaża się obficie, wywołując przerostowy stan zapalny ściany jelita prowadzący do biegunki, stopniowego wyniszczenia organizmu i śmierci zwierzęcia.

Choroba powoduje znaczne straty ekonomiczne. Są one spowodowane spadkiem mleczności oraz koniecznością wcześniejszej eliminacji zwierząt z hodowli, stanowiących niekiedy cenny materiał genetyczny (2, 8, 9, 30, 68, 71). Ponadto paratuberkuloza predysponuje do występowania schorzeń towarzyszących, głównie zapalenia gruczołu mlekowego i niepłodności (2). Znaczne koszty powoduje konieczność osobnego odchowu cieląt pochodzących od krów ze stad dotkniętych paratuberkulozą (30). Straty powstałe w następstwie paratuberkulozy bydła ocenia się w USA na 1,5 mld dolarów rocznie (38).

Zwalczanie paratuberkulozy jest trudne z uwagi na długi okres inkubacji choroby, wynoszący od kilku miesięcy do kilku lat oraz na brak swoistych i czułych metod rozpoznawania. Nie u wszystkich zakażonych zwierząt rozwija się kliniczna postać choroby. Prawdopodobieństwo wystąpienia objawów jest tym większe, im we wcześniejszym okresie życia doszło do zakażenia. Na infekcję i rozwój choroby znacznie bardziej narażone są zwierzęta 1-3 tygodniowe niż 1-2 letnie. Zwierzęta zakażone w starszym wieku mogą być bezobjawowymi nosicielami zarazka przez wiele lat (70).

Podstawę rozpoznawania paratuberkulozy stanowi próba izolowania zarazka z tkanek, pobranych w badaniu sekcyjnym, biopsji lub z kału (7, 66). Próba ta posiada 100% swoistość (52, 62, 69), a jej wyniki stanowią podstawę do oceny wyników testów serologicznych stosowanych w rozpoznawaniu tej choroby (19). Unowocześnienie metod izolowania *M. paratuberculosis* z kału spowodowało 2-3-krotne zwiększenie czułości próby, jednakże czułość ta wynosi nie więcej niż 50% (69). Jest to spowodowane okresowym brakiem siewstwa u nosicieli

M. paratuberculosis. Jeszcze mniejszą czułość i swoistość posiada mikroskopia preparatów z kału. W preparatach barwionych metodą Ziehl-Neelsena nie mamy bowiem możliwości odróżniania *M. paratuberculosis* od saprofitycznych prątków kwasoopornych (70). Niewielkie zastosowanie praktyczne do rozpoznawania choroby Johnego posiadają też testy hemaglutynacji (34), zahamowania migracji leukocytów (6), stymulacji limfocytów (9, 23), transformacji limfocytów (21), immunofluorescencyjny (1, 25, 32), czy immunoperoksydazowy (46). Śródskórny test z użyciem joniny posiada także ograniczoną wartość, z uwagi na występowanie reakcji fałszywie dodatnich (infekcje *M. avium*) i fałszywie ujemnych (67, 70).

W wielu laboratoriach na całym świecie prowadzi się badania mające na celu zwiększenie czułości i swoistości testów służących do rozpoznawania paratuberkulozy przeżuwaczy, szczególnie we wczesnym okresie choroby. Utrzymywanie się ognisk choroby Johnego w woj. bydgoskim oraz import i eksport zwierząt hodowlanych stworzył konieczność podjęcia prac mających na celu udoskonalenie diagnostyki tej choroby w naszym kraju. Do przyżyciowego rozpoznawania paratuberkulozy bydła usiłowano zaadaptować szereg testów dających dobre wyniki w rozpoznawaniu innych chorób zakaźnych. Niektóre z nich, jak OWD, weszły do rutynowych badań, inne traktowane są jako testy uzupełniające lub ich przydatność jest przedmiotem dyskusji i ocen.

Odczyn wiązania dopełniacza

Spośród metod serologicznych próbą najczęściej stosowaną od wielu lat w rozpoznawaniu paratuberkulozy jest odczyn wiązania dopełniacza (OWD) (19, 32, 63, 67). Po raz pierwszy został on zastosowany przez Banga i Andersena (cyt. za 28), którzy wysoko ocenili jego przydatność w rozpoznawaniu choroby Johnego. OWD zyskał wielu zwolenników, a niektórzy uznawali ten test za jedyny pozwalający wykryć zwierzę będące we wczesnym okresie choroby (51). Niektórzy autorzy uznali jednak, że test ten jest zbyt mało swoisty i podjęli