

# medycyna weterynaryjna

## ORGAN POLSKIEGO TOWARZYSTWA NAUK WETERYNARYJNYCH

Czasopismo poświęcone nauce i praktyce weterynaryjnej oraz biologii stosowanej, założone w 1945 r. przez Wydział Weterynaryjny UMCS w Lublinie.  
Wydawane z dotacją Komitetu Badań Naukowych

Referowane w: Biological Abstracts, Focus On: Veterinary Science and Medicine, Food Science and Technol. Abstr., Veterinary Bulletin, Index Veterinarius

**REDAKCJA:** prof. dr hab. Edmund K. PROST – redaktor naczelny, prof. dr hab. Elżbieta PEŁCZYŃSKA – z-ca redaktora naczelnego,  
dr hab. Krzysztof SZKUCIK – sekretarz administracyjny, mgr inż. Elżbieta STACHYRA – sekretarz redakcji

**RADA REDAKCYJNA:** prof. dr hab. Ryszard Badura, prof. dr hab. Zdzisław Larski, prof. dr hab. Marian Tischner, prof. dr hab. Stanisław Wołoszyn

**RADA PROGRAMOWA:** prof. dr hab. Wiesław Barej, prof. dr hab. Stanisław Cakała, prof. dr hab. Zygmunt Cygan, prof. dr hab. Zdzisław Gliński, prof. dr hab. Marian Grundboeck, prof. dr hab. Tomasz Janowski, prof. dr hab. Teodor Juszkiewicz, prof. dr hab. Jerzy Kita, prof. dr hab. Włodzimierz Kluciński, prof. dr hab. Władysław Lutyński, dr hab. Henryk Maciołek, prof. dr hab. Michał Mazurkiewicz, prof. dr hab. Zygmunt Pejsak, prof. dr hab. Zbigniew Samborski, prof. dr hab. Tadeusz Studziński, prof. dr hab. Eustachy Szeligowski, prof. dr hab. Krzysztof Świeżyński, prof. dr hab. Jan Tropiło, prof. dr hab. Marian Truszczyński, prof. dr hab. Janusz Wawrzekiewicz, prof. dr hab. Jan Zmudzki.

ZDZISŁAW LARSKI  
*Olsztyn*

*artykuł przeglądowy*

## Niektóre nowsze dane dotyczące mikrobiologii i chorób zakaźnych (V)

Bieżące referowanie spraw wymienionych w tytule artykułu wymaga możliwości korzystania przez autora z dużej liczby czasopism w miejscowych bibliotekach, co staje się coraz trudniejsze a wypożyczalnie międzybiblioteczne działają niezbyt sprawnie. Istotny kłopot sprawia też dobór materiałów, zwłaszcza, że wiele nowych ciekawych i ważnych osiągnięć naukowych w zakresie nauk biologicznych i lekarskich trudno często przedstawić w sposób poglądowy, zrozumiały dla wielu naszych kolegów, zwłaszcza starszych, bez znajomości przez nich podstaw teoretycznych. Słusznie ujął to S. B. Woo z Uniwersytetu Delaware mówiąc (cyt. wg 35): „Dziś nauka staje się tak abstrakcyjna, wyspecjalizowana i skomplikowana, że ogół postrzega ją jako twór ezoteryczny i nie przystający do życia. My, członkowie społeczności naukowej, musimy wypracować lepsze strategie aby „sprzedać” naukę i przekonać wszystkich o jej wartości”. Zadanie to trudne, ale próbować należy, na różnych poziomach, poczynając od spraw najprostszych i zachęcając do sięgania po opracowania poważniejsze.

### Bakteriologia

Perspektywy wprowadzenia nowych leków przeciwbakteryjnych. Omawiając w poprzednim artykule (30) zagrożenia wynikające z narastania oporności bakterii na obecnie stosowane antybiotyki przedstawiono konieczność doskonalenia metod immunoprofilaktyki i immunoterapii w walce z chorobami zakaźnymi. Trzeba też pamiętać o drugim ramieniu ochronnym organizmu, jakim jest rezystencja przeciwważna. Obejmuje ona wszystkie mechanizmy obronne, głównie nieswoiste (ale nie tylko takie) zarówno wrodzone jak i nabyte, nie będące następstwem oddziaływania antygeny zarazka z limfocytami T i B. Stwarzają one zarazkowi doraźnie przeszkodę w momencie jego kontaktu z organizmem (28). Metody stymulacji rezystencji omówiono w innym artykule (26). Możliwość wykorzystania czynników obronnych gospodarza do walki z chorobami zakaźnymi stwarza odkrycie naturalnych peptydów przeciwbakteryjnych, omówionych przez Kelley' a (24). A oto w skrócie najważniejsze

podane informacje. Badania prowadzone były niezależnie od siebie w trzech ośrodkach naukowych. H. Boman ze Sztokholmskiego Uniwersytetu odkrył kilka pierwszych naturalnych przeciwdrobnoustrojowych peptydów – cekropin, wytwarzanych przez owady; owady nie posiadające przecież komórek immunologicznych, takich jak limfocyty T i B, wytwarzają peptydy niszczące bakterie i grzyby. R. Lehrer z Kalifornijskiego Uniwersytetu w Los Angeles odkrył przeciwbakteryjne peptydy w neutrofilach ssaków i nazwał je defensynami. Sadaaki Iwanaga z japońskiego Uniwersytetu Kyushu w trakcie badań prymitywnego układu immunologicznego u kraba (horseshoe crab) odkryte bakteriobójcze peptydy nazwał tachyplezynami. Pierwsza naukowa konferencja poświęcona peptydom przeciwbakteryjnym, sponsorowana przez Ciba Foundation, odbyła się w styczniu 1994 r. w Londynie, a do tej chwili zidentyfikowano już ponad 150 takich substancji. Obecnie część ich listy i źródła ich otrzymywania można mylnie uznać, jak pisze Kelley, za „przepis na napar czarownicy: wyciąg z żuków i karaluchów, skóra żaby, limfa kraba, błona śluzowa jelit gryzoni, język krowy i krew pisklęcia”.

Peptydy izolowane z tych źródeł wykazują wspólny unikatowy mechanizm zabijania bakterii, inny niż u prawie wszystkich obecnych konwencjonalnych leków przeciwbakteryjnych, niszczą one bowiem zarazki rozrywając ich ścianę komórkową.

Wyniki tych badań skłoniły kilka firm farmaceutycznych do podjęcia prób produkcji takich peptydów, jako nowej generacji leków przeciwbakteryjnych, przy zastosowaniu metod biotechnologii. Otrzymano już w ten sposób m.in.: magaininy (peptydy skóry żaby), beta-defenzyny (peptydy bydła), cekropiny-mellityny (hybrydy cekropin z cziem i mellityn z pszczoł), protegryny (peptydy świń). Te nowe leki są obecnie przedmiotem pierwszych przedklinicznych prób, a z ich użyciem wiąże się wielkie nadzieje, gdyż, jak podaje Kelley (24) w zakończeniu swego artykułu, nie udało się indukować *in vitro* oporności bakterii na te naturalne peptydy, i można się spodziewać, że nie nastąpi to *in vivo* po wprowadzeniu ich do klinicznego stosowania.

Następną grupę leków przeciwbakteryjnych, będących przedmiotem wstępnych badań Onishi'ego i wsp. (36) omówiła krótko Bradbury (14). Dotyczą one nie wykorzystanych dotąd punktów przeciwbakteryjnego działania, a mianowicie enzymów potrzebnych do syntezy lipopolisacharydu (LPS), ważnego składnika ściany komórkowej gram-ujemnych bakterii. On powoduje jej częściową nieprzepuszczalność dla antybiotyków, skutecznych wobec bakterii gram-dodatnich. Onishi i wsp. badają związki ha-

mujące deacetylazę, biorącą udział w biosyntezie lipidu A wiążącego LPS ze ścianą komórki bakteryjnej i zakładają, że ich użycie umożliwi także inne oddziaływania na zakażenie bakteriami gram-ujemnymi. Ich ściana stanie się przepuszczalna dla antybiotyków, na które są normalnie odporne, a ponadto, ponieważ lipid A jest silną endotoksyną, hamowanie jego syntezy osłabi szok septyczny po zakażeniu gram-ujemnymi bakteriami. Autorzy przebadali już 200 analogów związku L-573,655 (o złożonej budowie chemicznej) *in vitro*, a także wykazali, że najaktywniejszy z nich chroni 100% myszy przed śmiertelną posocznicą po dootrzewnej iniekcji *E. coli*; preparat ten okazał się skuteczny także wobec kilku innych bakterii gram-ujemnych, ale nie przeciw *Pseudomonas aeruginosa* i *Serratia marcescens*.

#### Szybka identyfikacja *Escherichia coli* O157:H7.

Ten serotyp pałeczki okrężnicy, groźny patogen przenoszony z żywnością, wywołujący u ludzi krwotoczne zapalenie jelit i syndrom hemolityczno-uremiczny, opisano krótko w innym artykule (27), a bardziej szczegółowo omówili go Kwiatek i Różańska (25). Konwencjonalna metoda izolacji tego serotypu *E. coli* obejmuje jego namnożenie w odpowiednim podłożu a następnie serologiczną i biochemiczną identyfikację, co trwa kilka dni. Dostępne handlowe sondy genetyczne a także zastosowanie odczynu ELISA lub PCR eliminują praco- i czasochłonność takiego badania. Tortorello i wsp. opracowali szybką bezpośrednią, jednostopniową metodę identyfikacji *E. coli* O157:H7 w mleku (47), w mięsie wołowym (48) a ostatnio też w kale bydła (49). Punkt wyjścia do opracowania tej metody stanowiła opisana przez Hobbie'go i wsp. (21) filtracja membranowa i mikroskopia epifluorescencyjna, która okazała się szybkim i wydajnym sposobem wykrywania i określania liczebności bakterii w wodzie, glebie i żywności, wymagającym jednak dodatkowej ich identyfikacji. Tortorello i wsp. (47-49) udoskonaili tę metodę przez użycie znakowanych fluoresceiną przeciwciał swoistych dla antygeny O157 do barwienia bakterii zageszczonych na sączku, badanych następnie mikroskopią epifluorescencyjną; badanie trwa niecałą godzinę. Autorzy podkreślają użyteczność metody w skryningu nosicielstwa *E. coli* O157:H7 u bydła a także jako narzędzia badawczego w ekologicznych badaniach przenoszenia się tego patogenu i jego przeżywania (49).

Rozważając zagrożenie zdrowia ludzkiego trzeba pamiętać, że jakkolwiek na podstawie danych epidemiologicznych najpowszechniejszym źródłem zakażenia tym zarazkiem jest mięso wołowe, to izolowano go także z mięsa wieprzowego, jagnięcego i drobiowego (cyt. wg 20); ponieważ *E. coli* O157:H7 łatwo kolonizuje jelita ślepe młodych kurcząt, bę-

jących później jego siewcami przez kilka miesięcy, kury mogą stanowić rezerwuar patogenu. Opierając się na danych innych autorów wskazujących na ochronne działanie naturalnej mikroflory jelitowej przeciw szczepom *E. coli* patogennym dla kurcząt, Stavric i wsp. (cyt. wg 20) wykazali, że hodowle kałowej flory bakteryjnej dorosłych ptaków mogą redukować kolonizację *E. coli* O157:H7 u brojlerów i młodych niosek. Hakkinen i Schneitz (20) podjęli badania skuteczności działania gotowego handlowego preparatu „Broilact”, stanowiącego liofilizowaną mieszaninę bakterii jelitowych zdrowej kury, poddanego kontroli na brak swoistych patogenów. Pisklętom podano preparat w dniu wylęgu do wola a po 24 godzinach zakażono je a także pisklęta kontrolne tą samą drogą żywymi pałeczkami szczepu *E. coli* O157:H7 ludzkiego pochodzenia. W 5 dni później pisklęta uśpiono dwutlenkiem węgla, pobrano ich jelita ślepe i wykonano ilościowe badania szczepu użytego do zakażenia kontrolnego (challenge). Uzyskane wyniki wskazują na bardzo wyraźne działanie ochronne użytego preparatu. Autorzy pracy sądzą, że ten sposób postępowania może okazać się przydatny w zwalczaniu *E. coli* O157:H7 u drobiu.

## Wirusologia

Acetylocholina aktywuje latentne zakażenie wirusem choroby Aujeszkyego u świń. Jedną z form trwałych zakażeń wirusowych jest latencja (utajenie) wirusa, którego nie można wykazać, lub wydalany jest tylko sporadycznie, brak też objawów chorobowych poza okresami reaktywacji wirusa (53). Istotą takiego zakażenia jest trwała obecność wirusowego kwasu nukleinowego wcielonego do DNA komórki gospodarza. Najbardziej typowe jest to dla wszystkich członków rodziny *Herpesviridae*.

W celu aktywacji takich zakażeń stosuje się różne czynniki chemiczne wpływające na układ nerwowy, hormonalny lub immunologiczny. W badaniu diagnostycznym w kierunku IBR/IPV wywołanym przez typ 1 herpeswirusa bydła (BHV-1) dla aktywacji zakażenia latentnego wykonuje się przed pobraniem prób serię domięśniowych iniekcji prednisolonu lub deksametazonu. Ten drugi okazał się skuteczny w aktywacji latentnego zakażenia typem 1 herpeswirusa koni, EHV-1 (44) oraz wirusem choroby Aujeszkyego (46). W celu aktywacji innych herpeswirusowych zakażeń latentnych stosuje się też neurotransmittery (cyt. wg 45). Tanaka i wsp. (45), opierając się na nieopublikowanych danych Shimizu i wsp., którzy stwierdzili reaktywację latentnego zakażenia wirusem herpes simplex *in vitro* przez cholinergiczny neurotransmitter, acetylocholinę (ACH),

użyli jej w tym samym celu w odniesieniu do zakażenia wirusem choroby Aujeszkyego. Zastosowali ją u świń uznanych za latentnie zakażone na podstawie ujemnego wyniku zakażenia zjadliwym szczepem wirusa (brak objawów i wydalania wirusa). Po serii czterech domięśniowych iniekcji ACH wykazano obecność wirusa w wymazach z nosa. Również *in vitro* w hodowli eksplantatów tkanki zwojów nerwu trójdzielnego świń latentnie zakażonych, w obecności ACH nastąpiło namnożenie się wirusa. Nie wiadomo jaki jest mechanizm tej reaktywacji, jednak biorąc pod uwagę wyniki innych badań z użyciem adrenaliny, autorzy sądzą, że ACH może indukować katecholaminy wpływające na autonomiczny układ nerwowy; wskazywałoby to na pośrednie oddziaływanie ACH, ponieważ jednak zjawisko to stwierdzono także w hodowlach *in vitro*, ACH może działać też bezpośrednio.

Latentnie zakażone świny są przez całe życie nosicielami potencjalnie zakaźnego wirusa. Jego izolacja lub wirusowego antygeny możliwa jest tylko w okresach zaostrzenia procesu zakaźnego, natomiast obecność przeciwciał utrzymuje się w okresie latencji i to stanowi podstawę wykrywania i zwalczania choroby Aujeszkyego. Thawley i wsp. (46) zakładają możliwość, że u niektórych świń nie dochodzi do powstania odpowiedzi humoralnej na zakażenie lub w okresie latencji następuje powrót do stanu seronegatywnego. Wydaje się jednak, że są to sytuacje wyjątkowe, na co wskazują wyniki badań White i wsp. (52) wykonanych na dużym materiale zwierzęcym, w których porównywano czułość wszystkich dostępnych testów serologicznych używanych w okresie długotrwałej latencji. W pracy tej, wykrywając DNA wirusa w węzłach nerwu trójdzielnego, potwierdzono, że pierwotnymi miejscami latencji wirusa są obwodowe neurony czuciowe. Ponadto wykazano równoczesną obecność DNA wirusa w migdałkach świń przez 27 miesięcy, co wskazuje na rolę tej nienerwowej tkanki w latencji a zgodne jest z wynikami badań innych autorów (15, 17). Ma to ważne praktyczne znaczenie dla badań nad chorobą Aujeszkyego, gdyż dla celów diagnostycznych zwierzęta nie muszą być zabijane dla uzyskania tkanki nerwowej – wystarcza biopsja migdałków żywych zwierząt, którą można powtarzać w badaniach trwałości zjawiska latencji.

Szybka eliminacja substancji hamujących PCR z kału zwierząt badanego na obecność parwowirusa.

W celu ich usunięcia stosuje się kilka metod takich jak (cyt. w 51): ekstrakcja i oczyszczanie DNA, separacja immunomagnetyczna, filtracja w żelu oraz ogrzewanie i rozcieńczenie badanego materiału. Uwatoko i wsp. (50) wykazali w kale większości psów obecność takich substancji i podjęli próby ich

usunięcia przy użyciu filtracji w żelu; umożliwiło to wykazanie parwowirusa psów w kale naturalnie zakażonych zwierząt, jednak tą metodą nie usunięto całkowicie substancji hamujących. Ostatnio stwierdzono (cyt. wg 51) dużą skuteczność nowego kationowego powierzchniowo czynnego związku Catrimox-14™ (Iowa Biotechnology), który eliminuje substancje hamujące polimerazę Taq i odwrotną transkryptazę podczas ekstrakcji wirusowego RNA z kału ludzkiego. Uwatoko i wsp. (51) zbadali przydatność tego kationowego surfaktantu, Catrimox-14™ do wykrywania parwowirusa psów wprowadzonego z zewnątrz do kału różnych gatunków zwierząt: kota, kury, krowy, psa, kozy, chomika syryjskiego, konia, świni, królika, owcy, myszy i szczura. Ekstrakcja wirusowego DNA przy użyciu tego preparatu jest bardzo prosta i szybka – wszystkie jej fazy można wykonać w jednej probówce wirówkowej w ciągu 20 minut; kwas nukleinowy uwolniony w następstwie lizy cząstek wirusowych przez Catrimox tworzy z nim nierozpuszczalny kompleks, którego używa się bezpośrednio do próby PCR. Łączny jej czas, obejmujący 30 cykli amplifikacji wynosi 3 godziny. Takie postępowanie umożliwiło wykazanie parwowirusa psów we wszystkich badanych próbkach kału, natomiast stosowanie filtracji w żelu nie spowodowało usunięcia lub inaktywacji substancji hamujących PCR w próbkach kału myszy, kozy, szczura i owcy.

Czynnik etiologiczny zakaźnych gąbczastych encefalopatii. TSE (transmissible spongiform encephalopathies) – prion czy wirus? Sprawa ta jest głównym punktem zrozumienia sposobu przenoszenia się tych chorób. Zdania są podzielone – od przyjmowania, że wywołuje je wirus a występowanie PrP<sup>Sc</sup> i zmiany patologiczne są zjawiskiem wtórnym, do zakładania podwójnej roli PrP<sup>Sc</sup> – zakaźnej i patologicznej.

Finkel (19) zebrała i omówiła argumenty obu stron; wysuwane przez zwolenników hipotezy prionowej uważających TSE jako „chorobę struktury białka” są dość powszechnie znane. Anormalne białko PrP<sup>Sc</sup> posiada zdolność własnego powielania się przez przekształcanie prawie całej populacji normalnego białka PrP w PrP<sup>Sc</sup>, ulegające agregacji dzięki zwiększonej zawartości struktur sprzyjających temu zjawisku; neurotoksyczność jest powodowana przez powstałe agregaty. Argumenty przemawiające za tą hipotezą, odwołujące się głównie do uwarunkowań genetycznych, znajdują zainteresowani w artykule Finkel (19). Autorka przytacza argumenty wirusologa Chesebro, którego nie przekonują dane zwolenników hipotezy prionowej. Podaje on, że oczyszczone zakaźne preparaty PrP<sup>Sc</sup> zawierają małe ilości kwasu nukleinowego. Naranga (cyt. wg 10) wykazał obec-

ność swoistego dla trzęsawki (scrapie) DNA w mózgu zakażonych chomików, którego brak było w mózgu zdrowych zwierząt, jednak badania wykonane przez Bountiffa i wsp. (10) nie potwierdziły tych danych; stwierdzony przez Narangę DNA nie jest stałym składnikiem kwasu nukleinowego izolowanego z mózgu zakażonych chomików i dlatego jest mało prawdopodobne aby był swoisty dla czynnika scrapie. Chesebro (cyt. wg 19) uważa, że chociaż PrP<sup>Sc</sup> odgrywa centralną rolę w TSE, nie można wykluczyć, że białko to może sprzyjać zakażeniu wirusowemu, np. służąc jako receptor wirusowy. Finkel podaje też, że dla niektórych badaczy dowód wirusowego charakteru czynnika etiologicznego TSE stanowi jego sprawa swoistości szczepowej; różne szczepy izolowane od tego samego gatunku, chociaż identyczne na poziomie aminokwasowym, powodują charakterystycznie odmienne zmiany patologiczne. Według innych zjawisko to można tłumaczyć występowaniem strukturalnych wariantów PrP<sup>Sc</sup>; ten drugi pogląd wspierają omówione przez Finkel badania Caughey'a dotyczące zakaźnej encefalopatii nerek. Ale chociaż uzyskane wyniki są niepodważalne, Caughey dopuszcza możliwość, że nie stanowią one dowodu hipotezy wyłącznie białkowego modelu chorób prionowych.

Za wirusową hipotezą TSE przemawiają też przytoczone w innym artykule (29) opinie Diringera i wsp. oraz Liberskiego; zakładany sposób docierania zarazka wzdłuż nerwów do mózgu, przypomina takie posuwanie się m.in. wirusa wścieklizny a brak przeciwciał u zakażonych osobników jest następstwem otoczenia wirusa przez warstwę amyloidu, co uniemożliwia pobudzenie układu immunologicznego. Anonsowane przez Liberskiego wyniki badań wskazują na występowanie w mózgu chorych na CJD (choroba Creutzfeldta-Jakoba) cząstek, które okazać się mogą dotychczas nie wyizolowanym wirusem. Finkel (19) przytacza opinię Chesebro, który jako wirusolog wie o nieuchwytności wirusów, ale „nie-możliwość znalezienia poszukiwanego nie oznacza, że go nie ma”; podaje przykład „choroby szalonych koni” (choroby bornajskiej) – przez długie lata nie można było zidentyfikować czynnika etiologicznego, a teraz już znamy jego właściwości; wirus ten, chorobotwórczy dla kilku gatunków zwierząt, jest obecnie badany jako czynnik etiologiczny ludzkiej choroby neuropsychiatrycznej; to samo może dotyczyć TSE.

Z drugiej strony PrP<sup>Sc</sup> nigdy nie zostało całkowicie oczyszczone i nie można potwierdzić bezpośrednio hipotezy prionowej. Co prawda Bessen i wsp. (9) wykazali przemianę normalnego PrP w PrP<sup>Sc</sup> w układzie bezkomórkowym *in vitro*, co może sugerować, że nie potrzeba do tego dodatkowych drobin

informacyjnych, ale dalsze badania rozstrzygną czy jest ono zakaźne. Za najważniejszy argument przeciw przyjęciu wyłącznie białkowego charakteru czynnika zakaźnego uważa się to, że nie możemy sobie wyobrazić zarazka nie zawierającego dziedziczącej się informacji w postaci kwasu nukleinowego.

Nieoczekiwane wsparcie dla teorii prionowej dostarczyły wyniki badań amerykańskich uczonych Patino i wsp. (39) wykonanych na grzybach. Wykazali oni, że wadliwa cecha komórek drożdży może się powielać przez błędne, nieprawidłowe białko bez udziału DNA lub RNA. W skrócie sprawa ta przedstawia się następująco (cyt. wg 3). Autorzy badali szczepy drożdży posiadające anormalnie upostaciowane, niefunkcjonalne białko, Sup 35. Po wirowaniu wadliwych komórek wykazano, że tworzy ono skupienia, przypominające nierozpuszczalne płytki (plaques) białka, charakterystyczne dla gąbczastych encefalopatii ssaków. Po związaniu drobin białka Sup 35 z barwnikiem fluoryzującym, autorzy stwierdzili, że w zaatakowanych komórkach nowo syntezowane białko ulegało przekształceniu w formę wadliwą. Patino i wsp. (39) sądzą, że ich badania dostarczyły pierwszego doświadczonego dowodu nowej postaci dziedziczności: „wykazaliśmy, że zmiana kształtu białka może się sama powielać i przechodzić do innych komórek bez udziału DNA lub RNA”. Jest to sprzeczne z dogmatem biologii molekularnej, że dziedziczenie jest determinowane wyłącznie przez materiał genetyczny DNA lub RNA. Stwierdzenie to nie stanowi ostatecznego dowodu na przyjęcie prionowej etiologii gąbczastych encefalopatii, ale wspiera ją, dowodząc, że mogą istnieć czysto białkowe czynniki zakaźne.

Dalsze informacje o gąbczastej encefalopatii bydła, BSE. W niedawnym artykule (29) obejmującym piśmiennictwo do czerwca 1996 r. przedstawiono nowe fakty i hipotezy dotyczące tej choroby, wciąż jednak gromadzi się wiele nowych pytań i wątpliwości. Sprawa zagrożenia zdrowia ludzkiego przez BSE w dalszym ciągu nie została ostatecznie potwierdzona a duże nadzieje wiąże się z opracowaniem testów laboratoryjnych umożliwiających przyżyciową diagnostykę TSE (1). Amerykańscy badacze Hsich i wsp. (22) opisali sposób wykrywania charakterystycznego białka w płynie mózgowo-rdzeniowym pacjentów z chorobą Creutzfeldta-Jakoba (CJD) i zwierząt chorych na BSE, a dane dwóch z tych autorów (31) określają czułość tej metody na 98% a jej swoistość na 99%. Ukazała się też praca autorów niemieckich (55) wskazująca na możliwość diagnostyki CJD przy użyciu dwukierunkowej elektroforezy płynu mózgowo-rdzeniowego w żelu. Jones i wsp. (23) stosując tę metodę stwierdzili występowanie w tym płynie u bydła w końcowym

okresie inkubacji BSE, wskaźnika (markera) białkowego. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego w kierunku nowego wariantu CJD (vCJD) opisali Will i wsp. (54).

Ostatnie dane z 24 października 1996 r. przedstawione przez Collinge'a i wsp. (18), omówione krótko przez Bradbury (12, 13) stanowią dalsze wsparcie hipotezy powiązania BSE z CJD; obraz białka prionowego oczyszczonego z wyciągu mózgowego pacjenta cierpiącego na vCJD jest podobny do występującego u krów i innych gatunków zwierząt zakażonych BSE, a różni się wyraźnie od stwierdzonego w wyciągach mózgu w sporadycznych lub jatrogennych przypadkach CJD. Collinge zastrzega się jednak, że dane te nie stanowią absolutnego dowodu, że BSE jest przyczyną vCJD. Na konferencji prasowej (5) Collinge podał, że opracowana metoda wykrywania wskaźnika jest przydatna do badania mózgu, lecz jego zespół czyni próby rozszerzenia jej zastosowania do badania migdałków, węzłów chłonnych oraz ewentualnie krwi.

Udane próby wywołania BSE u małych naczelnych przez domózgowe zakażenie materiałem zakaźnym omówiono w poprzednim artykule (30) natomiast mały karmione przez wiele lat peletkami zawierającymi mączkę mięsną i kostną przeżuwaczy nie uległy zakażeniu (41, 42).

Niezwykle wyczerpująca analiza epidemiologiczna BSE w W. Brytanii, opracowana ostatnio i przedstawiona przez Andersona i wsp. (8) z Centrum Epidemiologii Chorób Zakaźnych Uniwersytetu w Oksfordzie, uwzględniająca modele szerzenia się zakażeń i zachorowań, zawiera też ocenę różnych strategii eliminacji zwierząt w celu likwidacji epidemii. Z przedstawionych danych wynika, że minęła ona już swój szczyt i nastąpi szybki jej spadek; liczba nowych zakażeń przez skażoną paszę zbliżyła się w 1994 r. do wartości zerowej, łącznie z zakładanymi nowymi matczynymi zakażeniami cieląt (pionowe zakażenia). Autorzy analizy uważają, że epidemia wygaśnie w 2001 roku. Wyniki pracy Andersona i wsp. wywołały szeroką dyskusję, omówioną m. in. przez Butlera (16). Komisja Europejska uważa, że poderwały one argumenty za planowanym ubojem zwierząt a podane różne strategie nie interesują Komisji – nieistotne jest czy chodzi o 10 000 czy 2 mln sztuk bydła, najistotniejsze jest szybkie, jak to tylko możliwe, zlikwidowanie przypadków BSE, przy czym nowe dane wskazujące na możliwość matczynego przenoszenia się BSE wymagają zwiększenia liczby wybijanych zwierząt (2). Jeden z dyskutantów zwraca uwagę, że analiza zapowiada wygaśnięcie w 2001 roku epidemii, ale nie mówi, że choroba zniknie zupełnie, a jeżeli utrzyma się w postaci sporadycznej, jaki powinien być wtedy

sposób postępowania. Ostrzega też, że w fazie sporadycznego występowania BSE, choroba ta może ewoluować w kierunku znalezienia innych dróg przenoszenia się i że już teraz trzeba o tym pomyśleć.

Omówienia pracy Andersona i wsp. (8) dokonał też Skegg (43), uwzględniając również dane innych autorów, m.in. dotyczące matczynego przenoszenia BSE. Wyniki badań wskazują, że takie zakażenie występuje u około 10% cieląt zakażonych matek, a ponieważ powszechnie przyjmuje się, że czynnika powodującego BSE nie ma we krwi i większości innych tkanek (poza mózgiem) zachodzi pytanie czy to matczyne przekazanie zarazka następuje przed, w czasie, czy po porodzie i jak – przez zarodek, łożysko, mleko lub jeszcze inaczej. Dane dotyczące tej drogi przekazywania zakażenia opublikowane przez Ministerstwo Rolnictwa W. Brytanii, omawia Bradbury (11); wyniki sugerują m.in., że przekazywanie BSE przez krowę cielęciu nastąpić może tylko w ostatnich 6 miesiącach zakażenia matki. Uważa się, że ta forma zakażenia nie jest sama w stanie podtrzymać epidemii. Co więcej pogląd dotyczący pionowego przekazywania BSE poddawany jest ostatnio w wątpliwość, nie ma jeszcze bowiem wyników badań zwierząt urodzonych w 1989 r.; bez tego, zdaniem niektórych, nie można określić stopnia takiej drogi przekazywania zakażenia i czy ona w ogóle ma miejsce (4, 40).

Optymistycznie zabrzmiały dane przekazane ostatnio (7) na konferencji prasowej przez Andersona, że dotychczasowa eliminacja prawie miliona sztuk bydła zwierząt spowodowała już zmniejszenie przypadków zachorowań u zwierząt w wieku poniżej 30 miesięcy do 150. W swej poprzedniej analizie Anderson i wsp. (8) przewidywali, że epidemia BSE wygaśnie w 2001 r., jednak opierając się na najnowszych danych Anderson uważa, że może to nastąpić w połowie 1998 r.; redukcja zapadalności na BSE do pojedynczych przypadków w ciągu najbliższych 18 miesięcy wymaga utrzymania przynajmniej połowy bieżącej liczby uboju 60 tys. zwierząt tygodniowo i poddawania mu w pierwszej kolejności zwierząt starszych.

## Immunologia

Lekarz weterynarii, dr Peter Doherty laureatem nagrody Nobla w dziedzinie medycyny w 1996 r. Otrzymał tę nagrodę wspólnie z dr Rolfem Zinkernaglem za pionierskie badania immunologiczne wykonane ponad 20 lat temu. Doherty, ur. w 1940 r. w Australii ukończył w 1967 r. studia weterynaryjne na uniwersytecie Queensland. Po dyplomie pracował cztery lata jako terenowy lekarz wet. i brał udział w epidemiologicznych badaniach leptospirozy bydła

(34). W 1970 r. uzyskał stopień doktorski (PhD) na uniwersytecie w Edynburgu na podstawie dysertacji dotyczącej doświadczalnej patologii wirusowego zapalenia mózgu owiec (6). Dwa lata później przeszedł do pracy w John Curtis School of Medical Research w Canberze w Australii i tam wykonał z Zinkernaglem badania, które zapewniły im nagrodę Nobla (32). Wiadomo było wtedy jak limfocyty T odrzucają przeszczepy tkankowe po rozpoznaniu drobin określanych jako główne antygeny zgodności tkankowej, MHC (major histocompatibility complex), natomiast nie wiedzano jak takie limfocyty rozpoznają komórki zakażone wirusem. Doherty i Zinkernagel wyjaśnili istotę tego mechanizmu obronnego polegającego na niszczeniu takich komórek przez limfocyty T w doświadczeniach na myszach. Okazało się, że te limfocyty nie są jednak w stanie niszczyć zakażonych wirusem komórek myszy innych szczepów, co dowodzi, że następuje to tylko wtedy, gdy limfocyty T i komórka będąca celem ich ataku mają ten sam MHC. Te prace stały się punktem wyjścia dla wielu badań dotyczących chorób autoimmunologicznych, produkcji szczepionek, transplantacji narządów i zrozumienia istoty nadzoru immunologicznego (6, 32, 34).

Szczepienia genetyczne – przełom w swoistej profilaktyce. W ostatnich trzech latach nastąpiła prawdziwa eksplozja badań w tym kierunku, a istotę i korzyści takiej formy uodparniania przy użyciu szczepionek genetycznych (polinukleotydowych) omówiono ostatnio także w polskim piśmiennictwie (30, 37). Zainteresowani znajdą wiele ciekawych informacji na ten temat w artykule McCarthy'ego (33). Zamieszczona tam rycina przedstawia kolejność zjawisk zachodzących w komórce, od wprowadzenia DNA, do prezentacji antygeny limfocytom: po wniknięciu plazmidu zawierającego gen dla peptydu antygenowego do komórki, następuje ekspresja antygeny, jego proteoliza, wejście powstałych peptydów do siateczki endoplazmatycznej, związanie antygenów z MHC, przeniesienie ich w pęcherzykach do powierzchni komórki i prezentacja peptydu na jej powierzchni limfocytom; to zapoczątkowuje odpowiedź immunologiczną. McCarthy (33) przedstawia zarówno historię odkrycia możliwości takiej metody immunizacji w 1989 r. przez Felgnera i Wolfa, jak też ostatnie udane próby indukowania w ten sposób odporności na wiele zakażeń wirusowych, bakteryjnych i pasożytniczych. Podane informacje wskazują na łatwość sporządzania szczepionek DNA nawet jeżeli dysponuje się stosunkowo miernym wyposażeniem laboratoryjnym. Zanim jednak takie szczepionki wejdą do klinicznego stosowania, konieczna jest odpowiedź na dwa ważne pytania dotyczące bezpieczeństwa ich użycia (33): czy plazmid wcie-

lony do genomu gospodarza nie spowoduje mutacji nowotworowej, i czy iniekcja nagiego DNA nie wywoła podobnej do toczenia (lupus-like) choroby autoimmunologicznej w następstwie odpowiedzi na DNA; brak dotąd danych wskazujących na takie niebezpieczeństwa.

Chociaż dotychczasowe doniesienia wskazują na dużą skuteczność szczepionek DNA, jednak być może nie będzie to regułą. Niepowodzenie takiego szczepienia przeciw zakażeniu herpeswirusem koni typ 1, EHV1 (equine herpesvirus 1) w modelowych badaniach na myszach wykazali Osterrieder i wsp. (38).

#### Piśmiennictwo

1. Anon.: Lancet 348, 835, 1996.
2. Anon.: Vet. Rec. 139, 126, 1996.
3. Anon.: Vet. Rec. 139, 152, 1996.
4. Anon.: Vet. Rec. 139, 328, 1996.
5. Anon.: Vet. Rec. 139, 430, 1996.
6. Anon.: Vet. Rec. 139, 431, 1996.
7. Anon.: Vet. Rec. 139, 555, 1996.
8. Anderson R. M., Donnelly C. A., Ferguson N. M., Woolhouse M. E. J., Watt C. J., Udy H. J., MaWhiney S.: Nature 382, 779, 1996.
9. Bessen R. A., Kocisko D. A., Raymond G. J., Nandan S., Lansbury P. T., Caughey B.: Nature 375, 698, 1995.
10. Bountiff L., Levantis P., Oxford J.: J. gen. Virol. 77, 2371, 1996.
11. Bradbury J.: Lancet 348, 393, 1996.
12. Bradbury J.: Lancet 348, 1157, 1996.
13. Bradbury J.: Lancet 348, 1230, 1996.
14. Bradbury J.: Lancet 348, 1299, 1996.
15. Brown T. T. Jr., Shin K. O., Fuller F. J.: Amer. J. vet. Res. 56, 587, 1995.
16. Butler D.: Nature 383, 209, 1996.
17. Cheung A. K.: Amer. J. vet. Res. 56, 45, 1995.
18. Collinge J., Sidle K. C. L., Meads J., Ironside J., Hill A. F.: Nature 383, 685, 1996.
19. Finkel E.: Lancet 348, 326, 1996.
20. Hakkinen M., Schneitz C.: Vet. Rec. 139, 139, 1996.
21. Hobbie J. E., Daley R. J., Jasper J.: Appl. Environ. Microbiol. 33, 1225, 1977.
22. Hsich G., Kenney K., Gibbs C. J., Lee K. H., Harrington M. G.: New Engl. J. Med. 335, 924, 1996.
23. Jones V., Martin T. C., Keyes P., Dawson M.: Vet. Rec. 139, 360, 1996.
24. Kelley K. J.: Nature Biotechnol. 14, 587, 1996.
25. Kwiatek K., Różańska H.: Medycyna Wet. 52, 29, 1996.
26. Larski Z.: Medycyna Wet. 38, 16, 1982.
27. Larski Z.: Medycyna Wet. 51, 4, 1995.
28. Larski Z.: Medycyna Wet. 52, 238, 1996.
29. Larski Z.: Medycyna Wet. 52, 479, 1996.
30. Larski Z.: Medycyna Wet. 53, 67, 1997.
31. Lee K. H., Harrington M. G.: Lancet 348, 887, 1996.
32. Masood E., Weiss U.: Nature 383, 465, 1996.
33. McCarthy M.: Lancet 348, 1232, 1996.
34. Meehan S. K.: J. Amer. vet. med. Ass. 209, 1671, 1996.
35. Nemecek S.: Świat Nauki nr 4, 13, 1995.
36. Onishi H. R., Pelak B. A., Gerckens L. S., Silver L. L., Kahan F. M., Patchett A. A., Galloway S. M., Hyland S. A., Anderson M. S.: Science 274, 980, 1996.
37. Osek J.: Medycyna Wet. 52, 549, 1996.
38. Osterrieder N., Neubauer A., Brandmüller C., Kaaden O. R.: Tierärztl. Umsch. 51, 683, 1996.
39. Patino M. M., Liu J. J., Glover J. R., Lindquist S.: Science 273, 622, 1996.
40. Ridley R. M., Baker H. F.: Nature 384, 17, 1996.
41. Ridley R. M., Baker H. F.: Lancet 348, 1174, 1996.
42. Ridley R. M., Baker H. F., Windle C. P.: Lancet 348, 56, 1996.
43. Skegg D. C. G.: Nature 382, 755, 1996.
44. Slater J. D., Borchers K., Thackray A. M., Field H. J.: J. Gen. Virol. 75, 2007, 1994.
45. Tanaka S., Imamura T., Sakaguchi M., Mannen K., Matsuo K.: Arch. Virol. 141, 161, 1996.
46. Thawley D. G., Solorzano R. F., Johnson M. E.: Amer. J. vet. Res. 45, 981, 1984.
47. Tortorello M. L., Gendel S. M.: J. Food. Protect. 56, 672, 1993.
48. Tortorello M. L., Stewart D. S.: Appl. Environ. Microbiol. 60, 3553, 1994.
49. Tortorello M. L., Stewart D. S., Cray Jr. W. C.: Vet. Microbiol. 51, 343, 1996.
50. Uwatoko K., Sunairi M., Nakajima M., Yamaura K.: Vet. Microbiol. 43, 315, 1995.
51. Uwatoko K., Sunairi M., Yamamoto A., Nakajima M., Yamaura K.: Vet. Microbiol. 52, 73, 1996.
52. White A. K., Ciacci-Zamella J., Galeota J., Ele S., Osorio F. A.: Amer. J. vet. Res. 57, 608, 1996.
53. White D. O., Fenner F.: Medical virology. Academic Press, Orlando 1986.
54. Will R. G., Zeidler M., Brown P., Harrington M., Lee K. H., Kenney K. L.: Lancet 348, 955, 1996.
55. Zerr I., Bodemer M., Otto M., Poser S., Windl O., Kretzschmer H. A., Gefeller O., Weber T.: Lancet 348, 846, 1996.

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

#### LEE K. H., HARRINGTON M. G.: 14-3-3 i BSE (14-3-3 and BSE) Vet. Rec. 140, 206–207, 1997 (8)

Dotychczas brak było możliwości przyżyciowego rozpoznania gąbczastej encefalopatii bydła (BSE) oraz choroby Creutzfeldta-Jakoba (CJD) u ludzi. Stąd też stale są podejmowane badania nad znalezieniem markera molekularnego dla tych chorób, co stanowi podstawę do opracowania przyżyciowej diagnozy choroby a także potwierdzenie jej występowania z chwilą pojawienia się objawów neurologicznych. W płynie mózgowo-rdzeniowym ludzi chorych na CJD występuje białko 14-3-3 uważane za charakterystyczny marker tej choroby. Białko to występuje też w płynie mózgowo-rdzeniowym krów. Na podstawie badań chromatograficznych płynu mózgowo-rdzeniowego pochodzącego od krów z BSE określono masę tego białka na 30 kDa. Istnieje jednak nadal konieczność udowodnienia, że białko 30 kDa nie występuje u krów z innymi poza BSE chorobami ośrodkowego układu nerwowego.

G.

#### EVANS D. L., GOLLAND L. C.: Dokładność testu Accusport w określeniu poziomu mleczanu we krwi i plazmie koni. (Accuracy of Accusport for measurement of lactate concentrations in equine blood and plasma). Equine Vet. J. 28, 398–402, 1996 (5)

Poziom mleczanu wzrasta silnie u koni w ostrych chorobach, na skutek złej perfuzji tkanek, metabolizmu beztlenowego i endotoksemii. Badano korelacje pomiędzy stężeniem mleczanu w pełnej krwi i w plazmie przy użyciu aparatu Accusport oraz YSJ. Określono ponadto wpływ wartości hematokrytu na dokładność badań aparatem Accusport. Krew pobierano od koni pełnej krwi w odstępach 5–10 minutowych. Przy stężeniu mleczanu powyżej 10 mmol/L wyniki uzyskane przy pomocy Accusport były zaniżone. Zaniżenie wyników miało miejsce też w przypadku gdy wartość hematokrytu przekraczała 58%. Bardzo dokładne wyniki uzyskano natomiast gdy poziom mleczanu w plazmie krwi wahał się w granicach 0,8–20,0 mmol/L.

G.