

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

OD REDAKCJI:

Prof. dr Marian C. Horzinek z Wydziału Weterynaryjnego Uniwersytetu w Utrechcie przesłał redakcji „Medycyny Weterynaryjnej” drugi z kolei artykuł przeglądowy w ramach ser-

wisu informacyjnego FELINFO nt. chorób kotów, opracowany przez prof. dr V. Moenniga. Pierwszy artykuł z tego cyklu opublikowano w nr 11/1985 „MW”.

VOLKER MOENNIG

Zapobieganie białaczce kotów

Białaczka kotów jest chorobą zakaźną o ciężkim przebiegu, która występuje powszechnie na całym świecie. Czynnikiem etiologicznym choroby — wirus białaczki kotów (FeLV) należy do rodziny retrowirusów, do której zaszeregowano między innymi wirus enzoptycznej białaczki bydła, białaczki ptaków, niedokrwistości zakaźnej koni oraz wirus wywołujący u ludzi syndrom nabytego niedoboru immunologicznego (AIDS).

Patogeneza. W 1964 r. Jarret i wsp. (5) wykazali naturę zakaźną białaczki kotów. Wyodróżniono przy tym trzy różne podgrupy wirusa białaczki, tj. wirusy z podgrupy A i B — wywołujące najczęściej przypadki kliniczne choroby, oraz wirusy zaliczone do podgrupy C, powstałe w następstwie rekombinacji wirusów z dwóch poprzednich grup z tak zwanymi endogennymi, niepatogennymi retrowirusami kotów. FeLV powoduje różne objawy chorobowe: białaczkę i chłoniakomiesaka oraz syndromy zwyrodnieniowe — niedokrwistość i immunosupresję. Zmiany te przypominają chorobę AIDS u ludzi, a nazwa kompleks białaczki kotów jest ogólnie przyjmowana.

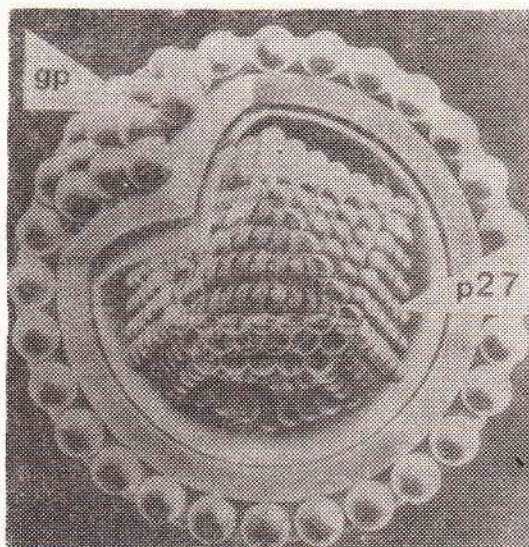
Choroba występuje powszechnie u kotów pomimo wprowadzenia do diagnostyki rutynowej począwszy od 1974 r. odczynów serologicznych, umożliwiających wykrycie i eliminację zwierząt z wiramią (1, 8). Stałym źródłem nowych zakażeń są klinicznie zdrowe koty siewcy wirusa. Zwierzęta te mogą wydalać wirus przez szereg lat w dużych ilościach wraz ze śliną i z moczem. Efektywność transmisji wirusa jest bardzo wysoka, szczególnie wówczas, gdy nościciele przebywają we wspólnych pomieszczeniach ze zdrowymi kotami. Zarazek przenosi się z reguły przez kontakt bezpośredni. Bramą wejścia jest jama ustna i jama nosowa, skąd wirus za pośrednictwem krwi przedostaje się do szpiku kostnego; dochodzi do wirerii i wydalania wirusa z ustroju. Młode (w wieku do 6 tygodni), a także stare koty są szczególnie podatne na zakażenie zwłaszcza wówczas, gdy kontaktują się często z siewcami wirusa.

W następstwie zakażenia wirusem FeLV może występować:

- przejściowa wiremia prowadząca do rozwoju trwałej odporności humoralnej,
- wysoki poziom przeciwciał swoistych bez uprzedniej wirerii,
- trwała wiremia bez obecności wykrywalnych przeciwciał,
- trwała wiremia z równoczesnym pojawieniem się wysokiego miana swoistych przeciwciał.

Na ogół w większości przypadków w następstwie zakażenia rozwija się trwała odporność. Wykazano bowiem obecność swoistych przeciwciał dla wirusa FeLV u bardzo znacznego odsetka zwierząt (do 90% badanych zwierząt w populacji).

Odporność po zakażeniu naturalnym. Budowa wirionu umożliwia lepsze zrozumienie charakteru swoistej odporności humoralnej dla wirusa FeLV (ryc. 1). Informacja genetyczna wirusa, tj. jednołańcuchowy RNA, a także enzym — odwrotna transkryptaza znajdują się w białkowym kapsydzie zawierającym białko p 27 (masa cząsteczkowa 27 000). Tę wewnętrzną strukturę wirionu (rdzeń) otacza



Ryc. 1. Model wirusa białaczki kotów. Strzałki wskazują na lokalizację kompleksów glikoproteidowych wirusa (gp) i rdzenia nukleoproteidowego (p 27)

osłonka lipidowa. Osłonka posiada sferyczne wypustki zbudowane z glikoproteidu gp 70 (masa cząsteczkowa 70 000). Glikoproteid gp 70 łączy się z wewnętrzną błoną p 15 E (masa cząsteczkowa 15 000) za pośrednictwem mostków dwusiarczkowych. Nieuszkodzony kompleks gp 70/p 15 E określany jest jako gp 85. Humoralna odpowiedź immunologiczna dla wirusa FeLV jest zasadniczo skierowana przeciwko powierzchniowej strukturze wirusa gp 70/85 i tzw. antygenowi związanemu z błoną onkornowirusa kotów — FOCMA. Przeciwciała skierowane przeciwko gp 70/85 mają zdolność zobojętniania wirusa, czyli chronią zwierzęta przed wiremiami i jej następstwami. Jednakże ta odporność może zostać przełamana u zwierząt, które pozostają w stałym kontakcie z nosicielami wydalającymi duże ilości zarazka. Ze względu na występowanie pokrewieństw antygenowych między wirusem FeLV i endogennymi, niepatogennymi retrowirusami kotów, wytwarzanie swoistych przeciwciał dla wirusa FeLV jest utrudnione (2). Jedynie wirusy FeLV różniące się wyraźnie budową antygenową od wirusów endogennych są rozpoznawane przez układ immunologiczny kotów jako obce i tylko one indukują odpowiedź immunologiczną.

FOCMA — antygen błony komórkowej, powstały w następstwie indukcji wirusem FeLV, przypomina zarówno pod względem chemicznym, jak i antygenowym glikoproteid osłonkowy wirusów FeLV, zaszeregowanych do podgrupy C. Przeciwciała dla FOCMA chronią zwierzę przed zmianami typu nowotworowego, które indukuje wirus FeLV. Jednakże nie chronią one przed wystąpieniem wiremii lub przed chorobami zwyrodnieniowymi kompleksu białaczki kotów, indukowanymi przez wirus FeLV.

Szczepionki. W warunkach naturalnych po zakażeniu rozwija się trwała odporność, co stwarza realne przesłanki do badań nad uodpornianiem czynnym przeciwko wirusowi FeLV. Efektywna szczepionka winna indukować odpowiednie i długo utrzymujące się miano przeciwciał zobojętniających wirus, zaś przeciwciała skierowane przeciwko antygenom FOCMA i p 15 E powinny zabezpieczać zwierzę przed nowotworzeniem i immunosupresją. Liczne próby otrzymania skutecznej szczepionki przeciwko FeLV przyniosły już pierwsze sukcesy. W USA opracowano szczepionkę dostępną w handlu. Przed omówieniem tej szczepionki należy wyjaśnić podstawowe założenia związane z produkcją i oceną szczepionek przeciwko białaczce kotów. Szczepionka winna zawierać antygen wirusowy gp 70 i antygen FOCMA, zaś białko p 15 E powinno stanowić tylko małą część masy antygeny, ponieważ w wyższych stężeniach wywiera ono działanie immunosupresyjne (16). W związku z tym następujące substancje o właściwościach immunogennych mogą być brane pod uwagę w produkcji szczepionek:

- komórki (żywe lub inaktywowane wytwarzające wirus),
- wirus żywy lub inaktywowany,
- produkty rozpadu (struktury powierzchniowe wirusa — gp 70/gp 85 lub struktury powierzchniowe komórki — FOCMA),
- antygeny syntetyczne,
- produkty uzyskane na drodze inżynierii genetycznej (antygeny komórek prokariotycznych lub eukariotycznych po uprzednim wyklonowaniu odpowiednich genów wirusowych).

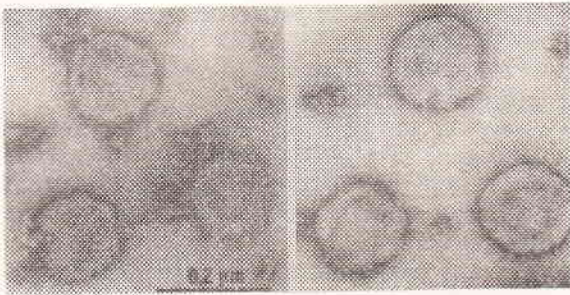
Szczepionki uzyskane różnymi drogami cechują się różną efektywnością. Przyszłość należy jednak do immunogennych preparatów syntetycznych i do preparatów uzyskanych na drodze inżynierii genetycznej.

Komórki. Komórki linii limfoblastoidalnej FL 74 wytwarzają wirusy FeLV, zaszeregowane do wszystkich trzech podgrup, i posiadają na swojej powierzchni antygen FOCMA. W związku z tym istnieje możliwość wykorzystania tej linii komórek do produkcji szczepionek. Jarret i wsp. (6) na podstawie wyników szeregu badań wykazali działanie ochronne tego rodzaju preparatów. Wszystkie bowiem szczepione zwierzęta przeżyły „challenge” wysokimi dawkami zjadliwego szczepu wirusa FeLV. Niemniej jednak szczepionki tego typu nastęrczają duże trudności natury technicznej. Trudno bowiem produkować duże ilości materiału antygenowego zawartego w żywych komórkach i przesyłać go poszczególnym odbiorcom. Ponadto istnieją pewne zastrzeżenia co do bezpieczeństwa użycia linii komórkowej FL 74 jako szczepionki. Ze względu na fakt, że wirus szczepionkowy należy do rodziny *Retroviridae*, a przedstawiciele tej rodziny mają zdolność wprowadzania własnej informacji genetycznej do chromosomalnego DNA gospodarza, wirus może się znaleźć poza zasięgiem działania układu odpornościowego żywiciela. Szczepienia przy użyciu komórek nowotworowych, produkujących żywe cząstki wirusa, mogą też doprowadzić do niekontrolowanych zaburzeń typu genetycznego, a tym samym winny być zaniechane ze względów etycznych.

Mając na uwadze wymogi bezpieczeństwa w dalszych badaniach wykorzystywano inaktywowane lub poddane lizie komórki linii FL 74 (6, 12, 14). Niestety, takie potraktowanie komórek spowodowało utratę ich właściwości immunogennych i szczepienia nie dawały zadowalającego efektu ochronnego.

Wirusy. Równoległe z badaniami nad szczepionką opartą o linię komórkową, Jarret i wsp. (6) przeprowadzili doświadczenia z żywym oczyszczonym wirusem, namnażanym na linii FL 74. Jednakże odporność szczepionych zwierząt nie była zadowalająca. Aczkolwiek Pedersen i wsp. (14) uzyskali nieco lepsze wyniki po zastosowaniu szczepionki zawierającej żywy wirus, tym niemniej te same zastrzeżenia for-

mułowane w stosunku do szczepionek komórkowych dotyczą i tej szczepionki.



Ryc. 2. Obraz retrowirusa w mikroskopie elektronowym. Z lewej strony powierzchnia wirusa z glikoproteidami, po prawej stronie — wiriony pozbawione glikoproteidu (znaczną utratą właściwości immunogennych)

Niektóre retrowirusy, wśród nich cząstki wirusa FeLV, posiadają labilne substruktury powierzchniowe. I tak powierzchniowy glikoproteid wirusa FeLV łatwo uwalnia się od wirionu, powodując utratę immunogenności wirionów (ryc. 2). To niekorzystne zjawisko odgrywa decydującą rolę przy produkcji szczepionek inaktywowanych (11). Jedynie w przypadku, gdy glikoproteidy powierzchniowe nowo utworzonych cząstek wirusowych są związane ściśle z błoną, co obserwuje się po zadziałaniu formaldehydem, inaktywowane wirusy mogą zostać wykorzystane do produkcji szczepionek. Szczepionki takie cechuje jednak ograniczona skuteczność (14) i jak dotąd nie są one powszechnie dostępne.

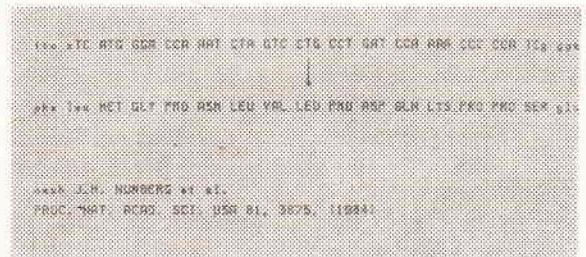
Szczepionki z podjednostek. Szczepionki z podjednostek są uznawane za bezpieczne i skuteczne, ponieważ zawierają w swoim składzie wyłącznie wyselekcjonowane immunogenne składniki białkowe wirusa bez jakichkolwiek domieszek jego kwasu nukleinowego. Pierwsze próby opracowania szczepionek z podjednostek przeciwko białaczce kotów podjęto przed 10 laty. Na modelu białaczki mysiej wykazano, że wyizolowane glikoproteidy wirusa posiadają właściwości immunogenne. Wykazują one przy tym niską immunogenność dla zwierząt tego samego gatunku, u których występują strukturalnie podobne endogenne retrowirusy; stąd też uzyskanie zadowalającego działania ochronnego wymaga użycia dużej ilości antygeny (3, 9). Jednakże otrzymanie dużych ilości gp 70 wirusa FeLV jest bardzo kosztowne, użycie zaś materiału antygenowego w mniejszych ilościach nie przynosi zamierzonych efektów (15). Hunsman i wsp. (4) ulepszyli technologię produkcji szczepionki przez połączenie gp 70 i p 15 E wiązaniem kowalentnym, czego efektem było uzyskanie antygeny gp 85. Połączenie hydrofilnego gp 70 z hydrofobowym p 15 E daje kompleks o strukturze rozetkowej, który cechuje wysoka immunogenność, znacznie przewyższająca immunogenność monomeru

gp 70. Użycie tego typu szczepionki nie przyniosło jednoznacznych rezultatów. Na przykład zespół kierowany przez Pedersena (13) nie potwierdził wyników uzyskanych w laboratorium prowadzonym przez Hunsmana (14). Być może zastosowano zbyt małe dawki antygeny, ale nie można również wykluczyć immunosupresyjnego działania antygeny p 15 E.

Lewis i wsp. (7) wykorzystali w procesie produkcji szczepionki zjawisko przechodzenia dużych ilości antygeny gp 70/85 i FOCMA z hodowli komórek linii FL 74 do podłoża. U zwierząt szczepionych materiałem zawartym w supernatancie hodowli komórkowej wykazano obecność przeciwciał dla antygenów gp 70, p 15 E i FOCMA. Około 80% szczepionych zwierząt przeżyło zakażenie doświadczalne zjadliwym szczepem wirusa FeLV. Dodatkową zaletą tej szczepionki było uzyskanie zadowalającej odporności także u młodych zwierząt, tj. w wieku powyżej 4 tygodni życia. Tego typu szczepionka pojawiła się w tym roku w USA, prowadzone są też starania nad jej wprowadzeniem na rynki europejskie.

Antygeny syntetyczne. Przyszłe szczepionki przeciwko białaczce kotów będą prawdopodobnie zawierały syntetyczne oligopeptydy, reprezentujące immunogenny fragment powierzchniowego glikoproteidu gp 70. Badania nad syntetycznymi antygenami wirusowymi opisali Numberg i wsp. (10), którzy stosując monoklonalne przeciwciała zobojętniające zidentyfikowali istotną determinantę antygenową gp 70 wirusa FeLV. Równocześnie wyjaśnili oni sekwencję nukleotydu i kolejność poszczególnych aminokwasów (ryc. 3). Ocena właściwości immunogennych i ochronnych syntetycznego oligopeptydu, o sekwencji aminokwasów identycznej z naturalnym peptydem wirusa FeLV wykazała, że posiada on słabsze właściwości immunogenne. Dobór odpowiedniego czynnika wiążącego (nośnika) oraz adjuwantu odgrywa decydującą rolę przy przygotowaniu skutecznej szczepionki. Przyszłość jednak okaże, czy spełnią one pokładane nadzieje w skutecznej immunoprofilaktyce białaczki kotów.

Szczepionki uzyskane na drodze inżynierii genetycznej. Różne elementy informacji genetycznej wirusa FeLV



Ryc. 3. Górny rząd — sekwencja nukleotydu genu ośłonkowego wirusa FeLV (duże litery). Każda grupa trzech nukleotydów koduje jeden aminokwas (rząd dolny)

udało się sklonować, wykorzystując w tym celu zarówno komórki bakterii, jak i drożdży. Zasadniczym celem jest uzyskanie ekspresji genów odpowiedzialnych za kodowanie antygeny gp 70. Właściwości immunogenne i ochronne tego antygeny, podobnie jak peptydów syntetycznych, uwarunkowane są doborem odpowiedniego adjuwantu.

Wnioski. Białaczka kotów stanowi duże ryzyko dla tych zwierząt, ze względu na charakter zakaźny i występowanie zakażeń latentnych. Pewien postęp w zwalczaniu tej choroby osiągnięto dopiero przed około 10 laty po wprowadzeniu laboratoryjnych testów diagnostycznych, które przyczyniły się do ograniczenia rozprzestrzeniania się wirusa w populacji kotów. Przez wiele lat skuteczna immunoprophylaktyka wydawała się niemożliwa. W ostatnich latach uzyskano jednak zachęcające wyniki dzięki rozwojowi biotechnologii i lepszym poznaniu właściwości retrowirusów. W USA już jest dostępna szczepionka przeciwko białaczce kotów, jednakże jej skuteczność wykażą dopiero masowe szczepienia. Obniżenie kosztów produkcji i zwiększenie skuteczności szczepionek zależy od wprowadzenia nowych technologii produkcji korzystających z osiągnięć nauki.

Piśmiennictwo

1. Hardy W. D. jr., Hirschaut Y., Hess P.: Detection of the feline leukemia virus and other mammalian oncornaviruses, by immunofluorescence. W: Unifying Concepts of Leukemia, wyd. Dutcher R. M., Chieco-Bianchi L., Karger, Basel, 1973, s. 778.
2. Hokama S. L., Gayachri D. B., Mullins J. I., Roy-Burman P.: J. Virol. 46, 829, 1983.
3. Hunsmann G., Moennig V., Schaefer W.: Virology 66, 372, 1975.
4. Hunsmann G., Pedersen N. C., Theilen G. H., Bayer H.: Med. Microbiol. Immunol. 171, 253, 1983.
5. Jarrett W. F. H., Martin W. B., Crichton G. W., Dalton R. G., Stewart M. F.: Nature 202, 596, 1964.
6. Jarrett W., Jarrett O., Mackey L., Laird H., Hood C., Hay D.: Int. J. Cancer 16, 134, 1975.
7. Lewis M. G., Mathes L. E., Olsen R. G.: Infect. Immun. 34, 889, 1981.
8. Lutz H., Pedersen N. C., Durbin R., Theilen G. H.: J. Immunol. Meth. 56, 209, 1983.
9. Moennig V., Frank H., Hunsmann G., Schneider I., Schaefer W.: Virology 61, 100, 1974.
10. Nunberg J. H., Rodgers G., Gilbert J. H., Snead R. M.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1984.
11. Olsen R. G., Hoover E. A., Schaller J. P., Mathes L. E., Wolff L. H.: Cancer Res. 37, 2082, 1977.
12. Olsen R. G., Schaller J. P., Hoover E. A., Yohn D. S.: Experimental oncornavirus vaccines in the cat. W: Comparative Leukemia Research, wyd. Clemmesen J., Yohn D. S., Bibl. Haemat., Karger, Basel, nr 43, 1975, s. 515.
13. Pedersen N. C., Birch D. E., Johnson L., Hill D., Theilen G. H.: 4th Internat. Feline Leukemia Virus Meet., St. Thomas, Virgin Islands, 12-16 grudzień 1983.
14. Pedersen N. C., Theilen G. H., Werner L. L.: Am. J. vet. Res. 40, 1120, 1979.
15. Salerno R. A., Lehman E. D., Larson V. M., Hilleman M. R.: J. Natl. Cancer Inst. 61, 1487, 1978.
16. Snyderman R., Cianciolo G. J.: Immunol. Today 5, 240, 1984.

Tum.: prof. dr hab. Zdzisław Gliński, prof. dr hab. Janusz Wawrzekiewicz

BOLESŁAW UZIĘBŁO, JAN PAWIŃSKI, JANUSZ NOWAKOWSKI*

Dermatofiloza owiec w Polsce – obserwacje kliniczne i izolacja drobnoustroju

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. W. Pola 2b, 71-342 Szczecin
* Zakład Technologiczno-Badawczy, Puławskie Zakłady Przemysłu Bioweterynaryjnego, 24-100 Puławy

Dermatofiloza jest bakteryjnym schorzeniem skóry charakteryzującym się wytwarzaniem strupów o wielowarstwowej budowie, zlokalizowanych w różnych okolicach ciała. Po raz pierwszy w 1915 r. chorobę tę u bydła opisał w Kongo Belgijskim Van Saceghem, podając objawy kliniczne i cechy charakterystyczne zarazka. Jest to promieniowiec *Dermatophilus congolensis* zaliczany zgodnie z VIII wydaniem Bergey's Manual (4) do grupy 17, rzędu *Actinomycetales*, rodziny *Dermatophilaceae* i rodzaju *Dermatophilus*. Drobnoustrój jest Gram-dodatnią, zarodnikującą bakterią, przechodzącą w swoim rozwoju skomplikowany cykl zmian morfologicznych. Zarazek jest patogeny dla wielu gatunków zwierząt domowych i dzikich oraz dla człowieka. Choroba stanowi poważny problem w krajach tropikalnych, zwłaszcza w hodowli bydła. Obszerny przegląd piśmiennictwa dotyczącego etiologii, patogenez, zmian klinicznych i leczenia dermatofilozy zwierząt podał Nowakowski (9).

Pierwszy przypadek dermatofilozy u owiec stwierdzony został w 1929 r. w Australii (3), następnie opisano ją w Afryce (3), Nowej Zelandii i Indiach (8). W ostatnich latach liczbą krajów europejskich, w których stwierdza się dermatofilozę owiec rośnie i obecnie jest ona notowana w Norwegii (13), Francji (5) i na Węgrzech (7). W Szwecji (2), RFN (12) i Francji (5) stwierdzono dermatofilozę u bydła. W Polsce nie stwierdzono dotychczas dermatofilozy u żadnego gatunku zwierząt.

W zależności od charakteru zmian i ich lokalizacji, u owiec wyróżnia się trzy postaci kliniczne choroby. W pierwszej postaci, określonej nazwą „lumpy wool”, zmiany występują na skórze pokrytej wełną. W drugiej, zwanej „strawberry foot rot”, zmiany zlokalizowane są na kończynach, w trzeciej zmiany występują na skórze głowy.

Celem badań było ustalenie etiologii schorzeń skóry obserwowanych u owiec, które swo-