

ZDZISŁAW LARSKI
Olsztyn

artykuł przeglądowy

Niektóre nowsze dane dotyczące mikrobiologii i chorób zakaźnych (II)

We wstępie do artykułu pod tym samym tytułem opublikowanego w numerze 1/94 „Medycyny Weterynaryjnej” (34) uzasadniono celowość takiej formy przekazywania informacji o nowych osiągnięciach naukowych. Być może w ten sposób uda się zainteresować i zachęcić do lektury czasopism naukowych tych naszych kolegów, którym nawet artykuły przeglądowe wydają się za trudne. Ta niechęć, a może tylko brak zainteresowania poznaniem naukowych podstaw wykonywanej pracy, występuje także w innych grupach zawodowych, na przykład w najbardziej nam bliskiej medycynie. Prof. med. Bogdan Kamiński (23) napisał niedawno, że „zbyt wielu spośród 90 tys. praktykujących lekarzy nie czyta prawie niczego poza „Expressem Wieczornym”. Nie wystarczy zatem pisać... trzeba jeszcze aby lekarze czytali. A to okazuje się trudne.”

Ta wypowiedź jest w najwyższym stopniu niepokojąca, zwłaszcza teraz, w okresie tak szybkiej weryfikacji starych, czasem nieskutecznych, a w pewnych przypadkach wręcz szkodliwych metod leczenia i wprowadzania nowych przy użyciu nowoczesnych leków i metod postępowania z pacjentem; te osiągnięcia powinny być znane dzięki powszechnej dostępności czasopism fachowych o znacznie zróżnicowanym stopniu łatwości ich recepcji. Warto ponadto przypomnieć, że czytelnictwo takich czasopism to nie tylko sprawa zaspokojenia ciekawości, ale też sprawa etyki zawodowej, zagadnienie deontologiczne. Obowiązek podnoszenia swych kwalifikacji zawodowych nakłada na naszych kolegów Polski Kodeks Etyki Weterynaryjnej (48), a rolę czytelnictwa w samokształceniowym procesie omówiono w innym artykule (32). Znajomość nowych teoretycznych danych o istocie chorób jest pomocna w postawieniu właściwego rozpoznania i podjęciu skutecznej terapii. Trzeba sobie przecież uświadomić, że obecnie właściciel zwierzęcia ma coraz więcej wiadomości z zakresu weterynarii (on czyta bardzo chętnie i wiele na te tematy w prasie popularno-naukowej) i bardziej krytycznie oceniać może metody stosowane przez lekarza wet., zwłaszcza, gdy brak jest efektu leczniczego, szczególnie u cennych, luksusowych zwierząt pokojowych i użytkowych.

Dalsza część niniejszego artykułu zawiera niektóre nowsze kolejne informacje dotyczące mikrobiologii i chorób zakaźnych. Byłoby dobrze, gdyby ukazywały się podobne ujęcia odnoszące się do innych dyscyplin naszego zawodu, np. patologii ogólnej, omawiające teoretyczne podstawy praktycznych zastosowań w leczeniu zwierząt.

Bakteriologia

Hipertermofilna bakteria. Jak wiadomo, bakterie w zależności od ich temperatury namnażania się, dzieli się na: psychrofilne – rosnące w temp. -5 do 30°C (optimum 10–20°C); mezofilne – w 10–45°C (optimum 20–40°C), w tej grupie mieszczą się bakterie patogenne dla człowieka i zwierząt;

termofilne – w 25–80°C (optimum 50–60°C). Poznano jednak bakterie zdolne do namnażania się w wyższych temperaturach, np. *Thermophilus aquaticus*, którego enzym – polimeraza Taq – używany jest w omówionej dalej reakcji polimerazowo-łańcuchowej, PCR (Polimerase Chain Reaction). Ostatnio izolowano hipertermofilny morski drobnoustrój (Archeon) *Pyrococcus furiosus* (Pfu), namnażający się optymalnie w temp. 100°C i posiadający wyjątkowo termostabilne enzymy, DNA ligazę i DNA polimerazę, które izolowali Fiala i Stetter (16). DNA polimeraza Pfu (Stratagene) wykazuje 12-krotnie wyższą aktywność niż polimeraza Taq.

Omawiany drobnoustrój zaliczyć można do nowo utworzonej grupy systematycznej archebakterii (*Archeobacteria*); ich „archaiczność” wyraża się zdolnością do życia w skrajnych temperaturach (110°C) i zdolnością do redukcji siarki w warunkach beztlenowych, jako sposobu zdobywania biologicznie użytecznej energii, co sugeruje, że pochodzą one od swych pierwotnych przodków (22).

***Escherichia coli* O157:H7 – groźny patogen człowieka.** W ciągu stycznia 1993 r. stwierdzono w USA w stanie Washington ponad 230 przypadków zakażeń ludzi tym drobnoustrojem – cztery z nich zakończyły się śmiercią. Spowodowało to olbrzymie zaniepokojenie nie tylko służby zdrowia, ale też służby weterynaryjnej, gdyż już wstępne dane wskazywały na związek między tymi zachorowaniami a spożyciem hamburgerów. Szczegółowy opis przypadków, okoliczności zachorowań i spowodowanych przez nie konsekwencji, dotyczących nadzoru nad obrotem mięsem podaje Spencer (46); z jego artykułu pochodzą podane tu bardzo skrótowo najważniejsze informacje.

E. coli O157:H7 jest zjadliwym szczepem pałeczki okrężnicy, obecnej w przewodzie pokarmowym zwierząt, co stwarza możliwość skażenia mięsa w trakcie uboju. Zakażenie człowieka *E. coli* O157:H7 powoduje krwotoczne zapalenie okrężnicy, wyrażające się zwykle krwawą biegunką, a w niektórych przypadkach hemolityczno-uremiczny syndrom, HUS (hemolytic uremic syndrome), zakażenie dróg moczowych. U dorosłych HUS może powodować rozwój zakrzepowej małopłytkowej plamicy, choroby ośrodkowego układu nerwowego, śpiączkę i zakrzepy mózgu. HUS rozwija się w 2–7%, u dzieci w 10–20% zakażeń. Udokumentowane dane świadczą, że HUS u dzieci stwierdzano od 1960 r., lecz *E. coli* O157:H7 izolowano dopiero w 1977 r., ale do 1982 r. nie łączono tego serotypu z zachorowaniami ludzi. Ocenia się, że zakażenie tym drobnoustrojem w USA następuje u około 20 000 osób rocznie; jest ono też powszechne w Kanadzie, a doniesienia wskazują na wzrost ich liczby w Europie i Japonii. Wypowiedzi naukowców sugerują, że musiała nastąpić jakaś zmiana w ostatnich 20 latach, prawdopodobnie w chowie zwierząt – być może dotyczy to zależności między obecnością zarazka

a sposobem żywienia, zmian w pomieszczeniach bydła lub wskutek jego kontaktu z innymi zwierzętami, co mogło stworzyć dla tego zarazka ekologiczną niszę, której przedtem nie było.

Zakażenie ludzi następuje przez spożycie skażonego mięsa wołowego, surowego mleka i wody; możliwe jest też przenoszenie się z człowieka na człowieka przy braku dostatecznej higieny. Zwierzęta-nosiciele tej bakterii nie wykazują żadnych objawów chorobowych, a stwierdza się ją w 5–10% stad bydła. Ta groźna sytuacja znajduje swe odbicie w urzędowych projektach wprowadzenia nowych, zarówno ewolucyjnych, jak i rewolucyjnych zmian w przepisach dotyczących nadzoru nad badaniem mięsa (3). Spencer omawia też konieczność podjęcia natychmiastowych środków zapobiegawczych, zanim badania dostarczą więcej danych o *E. coli* O157:H7 u bydła. Nie wchodzi w rachubę zaprzestanie spożywania mięsa, lecz konsumenci powinni otrzymać informację o należytych gotowaniu, oznaczyć powinno się produkty i poszukiwać nowych technologii zapewniających eliminację zarazka. Rozważa się, czy i w jakim stopniu celowe byłoby napromieniowanie żywności, ale wskazuje się na zalety dokładnego gotowania – temperatura mięsa powinna osiągać 71,1°C; temperatura lodówki winna wynosić 4°C i poniżej, a zamrażarki -18°C. Zapobieganie we własnym zakresie polega na: dokładnym gotowaniu wołowiny, picciu mleka tylko pasteryzowanego, wody tylko chlorowanej lub nasyconej kwasem węglowym, dokładnym myciu rąk mydłem po korzystaniu z toalety lub styczności z surowym mięsem. Całość artykułu wskazuje, jak poważnie i wielokierunkowo traktowana jest w USA sprawa *E. coli* O157:H7. W najnowszym opracowaniu Whipp i wsp. (51) omawiają odzwierzęce źródła serotypów *E. coli* patogennych dla ludzi, przytaczając dane ze 117 pozycji literatury, w tym około 30 dotyczących *E. coli* O157:H7; ten ostatni, nowy serotyp, charakteryzujący się m.in. tym, że w odróżnieniu od większości serotypów nie fermentuje sorbitolu, wykazuje genetyczne pokrewieństwo z wywołującym biegunkę niemowląt, *E. coli* O55:H7, który być może uzyskał dodatkowe czynniki zjadliwości. Brak dotąd doniesień o izolowaniu *E. coli* O157:H7 od innych zwierząt poza bydłem.

Ciepłota toksyna *Campylobacter jejuni*. *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* uważane były początkowo za patogeny zwierzęce, lecz w latach 80. poznano ich działanie chorobotwórcze u ludzi. McCardell i wsp. (39) wykazali w 1984 r., że oba te drobnoustroje wytwarzają toksynę, wrażliwą na ogrzewanie w 90°C przez 30 minut. Ostatnio Lam (26) stwierdził, że niektóre szczepy *Campylobacter jejuni* mogą wytwarzać także ciepłota toksynę i wykazał też trudny do wyjaśnienia fakt braku korelacji między jej chorobotwórczością dla zarodków kurzych a toksycznym działaniem na limfocyty kurcząt oraz między chorobotwórczością dla zwierząt a obecnością tej toksyny. Wykazuje ona oporność na ogrzewanie w temp. 100°C przez 10 min., co odróżnia ją od izolowanej przez McCardell i wsp. (39) toksyny cytotocycznej.

W związku z tą sprawą warto podać najnowsze doniesienia wskazujące, że występujący u ludzi *Campylobacter pylori*, określamy obecnie jako *Helicobacter pylori*, będący głównym czynnikiem etiologicznym dolegliwości dyspeptycznych oraz owrzodzeń żołądka i dwunastnicy, również wytwarza toksynę (38). Być może jej działanie stanowi jeden z czynników wciąż jeszcze niedostatecznie poznanych mechanizmów uszkodzenia błony śluzowej w chorobie wrzodowej. Może ono być także, zdaniem Miederera (41), następstwem działania wytwarzanego

przez *Helicobacter pylori* amoniaku, który chroni drobnoustroj przed niskim pH środowiska, ale też w pewnych warunkach powoduje owrzodzenia.

Etiologia choroby „kocięgo pazura” (cat scratch disease). Tę jednostkę chorobową człowieka opisano po raz pierwszy ponad 40 lat temu; po 4-14 dniowym okresie inkubacji wyraża się ona klinicznie powiększeniem regionalnych węzłów chłonnych, samoistnie ustępującym lub nasilającym się i kończącym się ich zropieniem, gorączką, złym samopoczuciem, zapaleniem spojówek, a w cięższych przypadkach zapaleniem mózgu (2). Zakażenie następuje przez podrapanie skóry lub pogryzienie przez kota także w miejscu odległym od zajętego węzła chłonnego; w USA stwierdza się rocznie około 20 000 przypadków zakażeń, a 10% z nich wymaga leczenia szpitalnego (2).

Poglądy dotyczące czynnika etiologicznego ulegały kilkakrotnie zmianom – początkowo sądzono, że chorobę wywołuje jakiś wirus, dlatego w niektórych pracach określa się ją jako „niebakteryjną limfadenopatię”. W 1988 r., jak podaje Alderman (1), wyizolowano z węzłów chłonnych pacjentów poli-morficzną, gram-ujemną, urzęsioną pałeczkę namnażającą się na pożywkach; nazwano ją *Afipia felis*, na cześć Armed Forces Institute of Pathology, AFIP (Instytut Patologii Sił Zbrojnych), gdzie wykonano większość wstępnych badań. Wydawało się wtedy, że sprawa etiologii choroby kocięgo pazura została definitywnie wyjaśniona, jednak ostatnio ogłoszone wyniki badań Zangwilla i wsp. (cyt. wg 2) oparte na dużym materiale klinicznym wskazują, że przyczyną choroby jest bakteria (ri-ketsja) *Rochalimea henselae* przenoszona przez pchły i koty. U większości pacjentów stwierdzono obecność przeciwciał dla tego zarazka. Szczególne zagrożenie stanowią koty zain-festowane pchłami (zapchłone), zwłaszcza młode. Brak dotąd danych co do naturalnego gospodarza *R. henselae*. Mimo wielu badań rola *A. felis* i *R. henselae* w omawianej chorobie ludzi nie została dotąd ostatecznie rozstrzygnięta (1); być może oba te drobnoustroje mogą wywoływać klinicznie podobne schorzenia. Badania wykonane w San Francisco wykazały nosicielstwo *A. felis* u 41% kotów.

Wirusologia

Apoptoza komórek w następstwie zakażenia wirusowego. Istota cytopatogenego działania wirusów nie została dotąd dostatecznie wyjaśniona. W odniesieniu do wirusa grypy masowy proces pączkowania z błony komórkowej można by uznać za wystarczającą przyczynę śmierci komórek; jednak ich zwyrodnienie stwierdzono także wtedy, gdy następuje niepełna replikacja wirusa w hodowli komórek (cyt. wg 47). Szczegółowe badania zmian morfologicznych zachodzących w DNA komórki wskazują, że istotą jej śmierci jest apoptoza (47). Termin ten, zaproponowany już w 1972 r. przez Kerr i wsp. (cyt. wg 52), znany jest cytologom, lecz w odniesieniu do zakażenia wirusowego pojawił się dopiero ostatnio i wymaga krótkiego wyjaśnienia. Otóż znane są dwie główne różnice się od siebie morfologicznie i biochemicznie drogi prowadzące do śmierci komórki: nekroza i apoptoza (52). Ta pierwsza powodowana jest przez szkodliwe, gwałtowne zaburzenia (czynniki) środowiska komórki, jak np. działanie dopełniacza, ostre niedotlenienie, niedokrwienie, hipertermia, które zwiększają przepuszczalność błony komórkowej i powodują nieodwracalne obrzmienie komórek; apoptoza uważana jest za fizjologiczny proces będący wyrazem wymiany (odnowy) komórek

w zdrowej tkance, w rozwoju embrionalnym i metamorfozie, w procesie starzenia się, atrofii (zaniku) i hiperplazji (prze-roście) tkanek spowodowanych przez hormony, a także w fazie regresji (cofania się) guza nowotworowego. Apoptozę określa się też jako zaprogramowaną, spontaniczną śmierć komórki, wyznaczoną działaniem zegara biologicznego – mówi się też o samobójstwie komórki. Morfologicznie charakteryzuje się apoptozą rozpadem jądra na fragmenty, kondensacją chromatyny i zmniejszeniem, skurczeniem się komórki.

Takie właśnie zmiany stwierdzili Takizawa i wsp. (47) w komórkach zakażonych wirusem grypy, a Ohno i wsp. (43) w komórkach zakażonych wirusem niedoboru immunologicznego kotów, FIV; ci drudzy autorzy przytaczają też dane uzyskane przez dwie grupy badaczy, którzy wykazali apoptozę limfocytów T w ostrej fazie zakażenia wirusem HIV (choroby AIDS); informacje dotyczące mechanizmów indukcji apoptozy przez wirus FIV i jej roli w rozwoju deficytu immunologicznego u zakażonych kotów mogą pomóc także w zrozumieniu istoty chorobotwórczego działania wirusa HIV.

Warto tu dodać, że najświeższe prace dwu grup amerykańskich badaczy (19, 54) dostarczyły danych, w jaki sposób następuje genetycznie regulowany wybór drogi prowadzącej do życia lub śmierci komórki. Decyzja obumierania, inicjująca proces apoptozy, pochodzi często od komórek w ich odpowiedzi na lokalne cytokiny, sygnały od genów wirusowych lub toksyczne uszkodzenia genomu komórki. Omawia te złożone zagadnienia w sposób uproszczony Wyllie (53) wskazując, że informacje o genach regulujących apoptozę mają bardzo duże znaczenie dla różnych dyscyplin, szczególnie dla biologii rozwojowej, badań nad rakiem, immunologii i toksykologii.

Być może jednym z mechanizmów przeciwnowotworowego działania wirusów, omówionego w innym artykule (33), okaże się indukowanie przez nie apoptozy. Badania istoty naturalnej, fizjologicznej śmierci komórki mają szczególne znaczenie dla perspektyw chemioterapii nowotworów. Normalne komórki po około 50 podziałach „umierają śmiercią naturalną” (apoptozą), natomiast komórki nowotworowe są nieśmiertelne, nie ulegają nakazom zegara biologicznego, co kończy się tragicznie dla gospodarza. Ta ich nieśmiertelność wynika stąd, że prawdopodobnie wytwarzać mogą jakiś enzym hamujący apoptozę; można się więc spodziewać, że uda się znaleźć przeciwdziałające mu antidotum i dzięki temu uczynić komórki nowotworowe śmiertelnymi, a więc przywrócić im normalność.

Objawy nerwowe w przebiegu zakażenia kotów lentivirusem niedoboru immunologicznego, FIV (feline immunodeficiency virus). Zakażenie kotów tym wirusem, omówionym dość obszernie w polskim piśmiennictwie (10, 28), wyraża się biegunką, zapaleniem dziąseł, chronicznym zapaleniem jamy nosowej, spojówek, objawami nerwowymi, uogólnionym powiększeniem węzłów chłonnych, leukopenią, anemią i wychudzeniem – choroba zawsze kończy się śmiercią. Zaburzenia nerwowe w przebiegu tego zakażenia omawiają bardziej szczegółowo Dow i wsp. (15) na podstawie badań własnych i innych autorów. Wynika z nich, że objawy te występują tylko u 1/3 zakażonych zwierząt, a wyrażają się zmianami zachowania i nastroju: depresją, unikaniem towarzystwa, utratą wyuczonych nawyków higienicznych, rzadko agresywnością, niekiedy drgawkami mięśniowymi, także twarzy i języka, otępieniem (demencją), przymusowym wałęsaniem się; brak doniesień o zaburzeniach nerwowych na tle zaburzeń funkcji rdzenia krę-

gowego. Wymienione objawy stwierdza się u kotów także przy wirusowym zapaleniu otrzewnej, metabolicznych encefalopatiach, chronicznej niewydolności nerek i przy guzach mózgu (15); neurologiczne objawy wywołane przez wirus FIV występują zwykle w zaawansowanym stadium choroby, mimo że wirus dociera do ośrodkowego układu nerwowego w bardzo wczesnej fazie zakażenia. Dow i wsp. (15) wykazali w badaniach *in vitro*, że pierwszymi komórkami docelowymi dla wirusa są astrocyty i makrofagi mózgowe; te pierwsze szybko tworzą zespólnie (syncytia) i obumierają, natomiast makrofagi ulegają trwałemu zakażeniu i wytwarzają cząstki wirusa, stanowiąc tym samym jego rezerwuuar, ponadto zakażone makrofagi mogą uwalniać białka płaszczka wiriona, działając toksycznie na sąsiadujące z nimi neurony.

Stanowiłoby to analogię do stwierdzonego zjawiska odgrywającego bardzo istotną rolę w patogenezie zakażenia wirusem HIV (choroby AIDS), wykazującym wiele wspólnych cech z wirusem FIV. Sprawy te omawia Lipton (36) opierając się m.in. na badaniach Toggas i wsp. (49). Otóż objawy nerwowe wyrażające się zaburzeniami percepcji, ruchu i uczucia, prowadzące do otępienia, występują u około połowy dzieci oraz u 1/3 dorosłych chorych na AIDS. Przyczyną tych zaburzeń jest uszkodzenie neuronów przez neurotoksyny wytwarzane przez makrofagi zakażone wirusem HIV-1, a nawet przez makrofagi nie zakażone, lecz aktywowane białkiem gp120 uwalnianym się z płaszczka wirusa; to tłumaczy rozbieżność między ciężkim uszkodzeniem komórek nerwowych (neuronów) a skąpą ilością wykrywalnego w nich wirusa.

Wirus niedoboru immunologicznego bydła, BIV (bovine immunodeficiency virus). Omówiono go po raz pierwszy w polskim piśmiennictwie (28) razem z innymi limfotropowymi lentivirusami zwierząt: SIV (simian immunodeficiency virus) u małp i FIV (feline immunodeficiency virus) u kotów. Ostatnio ukazał się na temat BIV artykuł Polaka i Żmudzińskiego (45). BIV izolowano po raz pierwszy już w 1969 r. w USA od krowy chorej na chłoniaka (*lymphoma*), który zresztą, jak później wykazano, wywołany był przez inny wirus (12); BIV nie był jednak uważany za wirusa powodującego niedobór immunologiczny do połowy lat 80., kiedy uznano go za lentivirus wykazujący podobieństwo do wirusa HIV (human immunodeficiency virus), sprawcy AIDS u ludzi. Wykonane przez Van der Maatena i wsp. w 1972 r. próby zakażenia cieląt pierwszym izolatem wirusa spowodowały odczyn proliferacyjny, wyrażający się znacznym powiększeniem węzłów chłonnych i umiarkowaną limfocytozą.

W odróżnieniu od HIV, SIV i FIV, BIV nie wykazuje wyraźnego chorobotwórczego działania. Testy serologiczne wykazały obecność przeciwciał dla BIV u 1,5% badanych krów w Holandii (20), u 4% w USA (cyt. wg 40) oraz u 5,5% w Kanadzie (40). Gwałtowny wzrost zainteresowania wirusem BIV nastąpił w lutym 1994 r. W artykule zamieszczonym w „Nature” pod znanym tytułem „Widmo AIDS ukazuje się w doniesieniach o chorych krowach”, Clayton (12) podaje, że wtedy właśnie w angielskim dzienniku „Independent on Sunday” ukazał się artykuł opisujący „pierwszy przypadek choroby AIDS u bydła w W. Brytanii”. Zwrócono w nim uwagę na kłopoty, w jakich znalazł się jeden z farmerów w Cheshire, w którego stadzie liczącym 50 krów stwierdzono przypadki zachorowań wśród objawów nerwowych, utraty wagi, owrzodzeń jamy gębowej i zakażeń dróg oddechowych. Clayton (12) podaje, że ta „tajemnicza choroba” wywołała poważne zaniepokojenie i mimo prób zminimalizowania su-

gestii łączących objawy u bydła z obrazem klinicznym AIDS u ludzi, miejscowe przedsiębiorstwa handlowe odmówiły obrotu mięsem pochodzącym z tej farmy. Testy serologiczne u 8 badanych krów wykazały obecność przeciwciał dla BIV. Sytuacja ta spowodowała ukazanie się artykułu Brownlie'go i wsp. (9) zawierającego analizę naukową dotyczącą BIV jako potencjalnej przyczyny opisanej choroby bydła. Na pytanie, czy wirus ten może być tak bardzo patogenny dla bydła, autorzy nie mogą dać odpowiedzi, gdyż brak dotąd wystarczających danych. Lentiwirusy wywołują bowiem jawny proces chorobowy po długim okresie inkubacji 3–5, a nawet więcej lat, a w dotychczasowych próbach zakażenia wirusem BIV okres obserwacji inokulowanych zwierząt wynosił w doświadczeniach Van de Maatena i wsp. 12 tygodni, a w innych najdłuższy – 27 miesięcy. Z uwagi na dotychczasowe niedostateczne próby wywołania klinicznej choroby po sztucznym zakażeniu, autorzy artykułu uważają za celowe zapytanie terenowych praktykujących lekarzy wet., czy stykają się z syndromem wyniszczenia (znacznej utraty masy ciała) bez widocznej przyczyny; jeżeli odpowiedź brzmiałaby – nie, mogłoby to oznaczać, że BIV nie stwarza groźby endemicznej choroby. Biorąc jednak pod uwagę zdolność lentiwirusów do genetycznej zmienności cech zarówno antygenowych, jak i biologicznych, nie można wykluczyć zmian patogenezy, wyrażającej się rozwojem ostrego obrazu klinicznego.

W sprawie zagrożenia zdrowia ludzkiego przez BIV Brownlie i wsp. (9) wyrażają pogląd, że nie ma podstaw do uważania go za potencjalny ludzki patogen z kilku powodów: cechą charakterystyczną lentiwirusów jest ich wysoka swoistość gatunkowa pod względem chorobotwórczości – warto uświadomić sobie, że ludzkość przez wiele pokoleń była w ścisłym kontakcie z końmi, owcami, kozami i kotami, z których wiele było i jest zakażonych lentiwirusami; wirus BIV nie namnaża się w hodowlach ludzkich komórek, nawet tych najbardziej wrażliwych na zakażenie wirusami HIV i SIV; surowice ludzi zakażonych HIV (nosicieli wirusa) nie wykazują krzyżowej reakcji ze swoistymi antygenami BIV; autorzy przytaczają też fakt ujemnego wyniku badania serologicznego dwu pracowników laboratoryjnych w USA, którzy skaleczyli się przypadkowo igłami zanieczyszczonymi wirusem BIV. Komentując przypadki nie rozpoznanej dotąd przyczyny choroby krów w Cheshire Brownlie (cyt. wg 12) uważa, że może ona być też wywołana przez całkiem inny wirus.

Drogi przenoszenia się wirusa białaczki bydła. Zagadnienie to omówił bardzo szczegółowo DiGiacomo opierając się na bogatym piśmiennictwie dotyczącym pionowej (13) i poziomej (14) drogi szerzenia się zakażenia. Dane te mogą być bardzo pomocne w walce z białaczką, gdyż wyniki eksperymentalnych badań nad wywołującym ją wirusem nie zawsze stanowią odbicie tego, co dzieje się w naturze. Informacje zestawione w dwu tabelach podają, kiedy ma miejsce przenoszenie w przypadku ekspozycji naturalnej (terenowej), jatrogennej i eksperymentalnej. Między innymi wyklucza się przenoszenie wirusa przez owady w warunkach naturalnych, co sugerowały starsze prace cytowane przez Buxtona i Schultza (11), na które powołują się też niektórzy nasi autorzy.

Lentiwirus wisna-maedi – czynnik etiologiczny stwardniającego limfocytarnego zapalenia gruczołu mlekowego owiec. Za główne procesy w przebiegu choroby wisna-maedi uważa się, w formie nerwowej (wisna) – demielinizację białej substancji mózgu i rdzenia, której towarzyszy wyraźna pleo-

cytoza; istotą płucnej postaci (maedi) jest powolnie rozwijające się śródmiąższowe zapalenie płuc. Jak podaje Pekelder i wsp. (44) już od 1975 r. przypisywano temu zakażeniu także rolę w powstawaniu limfocytarnych zmian w gruczole mlekowym, jednak dowiedziono tego dopiero w 1987 r.; dalsze badania w owczarni mocno zaatakowanej przez wirus maedi-wisna wykazały limfocytarne zmiany w 53% gruczołów mlekowych owiec (nawet u jagniąt), a wyraźne zmiany w płucach tylko u 10% owiec. Histologicznie stwierdzono zmniejszenie się tkanki wydzielniczej gruczołu mlekowego. Pekelder i wsp. (44) wykazali w swych badaniach eksperymentalnych, że te zmiany gruczołu mlekowego są przyczyną obserwowanych w terenie słabych przyrostów jagniąt, co stanowi bardzo ważną ekonomicznie cechę choroby maedi-wisna owiec.

Choroba bornajska u kotów. Wykazały ją badania Lundgren i wsp. (37) wykonane w Szwecji, gdzie chorobę tę stwierdzano znacznie częściej w okresie między grudniem a majem. Główne objawy to: sztywny, chwiejny chód, niezdolność do wskakiwania i zeskakiwania, nieźborność tylnych kończyn, a także zmiany zachowania – pobudzenie, częstsze niż zwykle miauczenie, bardzo duża lękliwość, rzadko agresywność; choroba kończyła się śmiercią w ciągu 2–4 tygodni lub przechodziła w fazę chroniczną z utrzymywaniem się nieprawidłowości neurologicznych.

Wyniki tych badań i obserwacji rozszerzają listę zwierząt wrażliwych na naturalne zakażenie wirusem choroby bornajskiej, pierwotnie uważanym za chorobotwórczy tylko dla koni – później wykazano tę chorobę u królików i owiec. Poważne zaniepokojenie budzą dane wskazujące na rolę chorobotwórczą tego wirusa u ludzi (8), szczególnie w przypadku istnienia niedoborów immunologicznych (7). Dane zamieszczone w artykule Trautweina (50) wskazują, że zmiany w mózgu zwierząt wywołuje nie sam wirus, lecz uruchomiona przez niego komórkowa odpowiedź immunologiczna (proces autoimmunologiczny).

Szybka diagnostyka zakażeń wirusowych. Milowymi krokami w jej wprowadzeniu były: test ELISA, hybrydyzacja molekularna (sondy genetyczne) i szczytowe obecnie osiągnięcie – polimerazowa reakcja łańcuchowa, PCR. O ile w teście ELISA wykorzystuje się zjawisko swoistego wiązania się przeciwciał z antygenem, to istotą metody sondy genetycznej i PCR nie jest wykrywanie antygenów wirusa, lecz jego kwasu nukleinowego, który jest unikatowy dla poszczególnych wirusów – to są te ich nukleinowe „linie papilarne”. Wiadomo, że o swoistości każdego wirusa, a także każdego żywego organizmu decyduje właśnie unikatowa dla niego i niepowtarzalna sekwencja czterech zasad – adeniny, gwaniny, cytozyny i tyminy, w postaci nukleotydów tworzących łańcuch DNA. Mogłoby się wydawać rzeczą niemożliwą, aby kolejność tylko tych czterech zasad mogła przekazywać informację genetyczną dla niezliczonej liczby żywych form; słusznie jednak mówi się, że jeżeli używając tylko dwu znaków – kreski i kropki w alfabecie Morse'a można przekazać wszystkie możliwe informacje np. napisać wszystkie książki świata, to cztery zasady w różnej kolejności (sekwencji) stwarzają jeszcze większe możliwości.

Wykrywanie kwasu nukleinowego wirusa metodą hybrydyzacji polega na użyciu gotowych preparatów diagnostycznych dla poszczególnych wirusów, zwanych sondami genetycznymi (lub nukleinowymi). Sporządza się je rozdzielając podwójną nić DNA wirusa przez ogrzewanie lub działanie NaOH, a

uzyskaną pojedynczą nić znakuje się izotopem, enzymem, fluorochromem lub inną substancją łatwą do uwidocznienia. Jeżeli w badanym materiale znajduje się DNA takiego samego wirusa jak ten, z którego DNA sporządzono sondę, to po jej wprowadzeniu do próbki nastąpi na zasadzie komplementarności („swoj do swego”) molekularne połączenie (hybrydyzacja) nici sondy z nicią DNA wirusa, łatwe do wykazania dzięki substancji użytej do oznakowania. Ta metoda omówiona bardziej szczegółowo w innym opracowaniu (31) jest niezwykle czuła – umożliwia wykrycie jednej bilionowej czyli 10^{-12} grama kwasu nukleinowego. Niekiedy jednak nie ma w badanym materiale nawet tak małej jego ilości, a wtedy możliwe jest wykonanie badania rozpoznawczego przy użyciu metody PCR.

Polimerazowa reakcja łańcuchowa, PCR (polymerase chain reaction) opracowana została przez Kary Mullisa, który otrzymał za to wielkie osiągnięcie nagrodę Nobla w 1993 r. Autor opisał w sposób bardzo interesujący jak doszło do tego odkrycia (42). Zarówno w pracach fachowych, jak i czasopismach popularnonaukowych (17, 18, 24) metoda PCR jest często omawiana, jednak wydaje się celowe wyjaśnienie jej istoty w sposób jak najbardziej prosty, przystępny nawet tym, którzy mają tylko elementarne, wyniesione ze studiów, wiadomości z biologii molekularnej.

Binns (6) cytuje powiedzenie Klingeborna, porównujące skuteczność użycia PCR w celach diagnostycznych do wykrycia igły w stogu siana przez przekształcenie go w stóg igieł identycznych z poszukiwaną. W badanej próbce (trzymając się użytego porównania – w tym stogu siana), oprócz interesującego nas DNA (tej umownej igły), może się znajdować mnóstwo innych składników, m.in. DNA komórek gospodarza, DNA różnych bakterii, DNA innych wirusów. Celem PCR jest odszukanie, jeżeli tam jest, właśnie tylko DNA (tej igły) poszukiwanego wirusa i zwielokrotnienie tylko jego. Do tego potrzebne jest użycie: 1. materiału, składników do zbudowania potomnych cząsteczek interesującego nas DNA, a więc czterech nukleotydów zawierających zasady wymienione poprzednio przy omawianiu sond genetycznych – adeninę, gwaninę, cytozynę i tyminę; 2. narzędzia syntezy, którym jest termostabilna polimeraza Taq – enzym łączący te nukleotydy w nić DNA; 3. czynnika inicjującego tę syntezę; ten ostatni stanowią dwa krótkie odcinki o znanej sekwencji nukleotydów poszukiwanego DNA, mające zdolność wiązania się z przeciwnymi jego nićmi. Nazywa się je starterami, gdyż one zaczynają powielanie potomnych nici DNA na macierzystej matrycy; startery to syntetyzuje się we własnym zakresie lub nabywa w handlu.

Po dodaniu wymienionych składników do badanej próbki całość ogrzewa się krótko do temp. 94°C , co powoduje rozdzielanie nici poszukiwanego DNA (jeżeli jest w próbce), a następnie szybko schładza do temperatury, w której startery dołączają się do rozdzielonych przeciwnych nici DNA, a polimeraza uruchomi syntezę komplementarnych nici z wolnych nukleotydów. Dzięki temu z jednej dwuniciowej cząsteczki DNA powstają identyczne dwie jego cząsteczki. Ta identyczność nowo powstających nici na nici macierzystej uwarunkowana jest tym, że zasady nukleotydów lokują się zawsze w ściśle określony sposób: adenina naprzeciw tyminy, a cytozyna naprzeciw guaniny.

Kolejne cykle ogrzewanie i schładzanie powtarza się około 30 razy w łącznym czasie około kilku godzin i każdy taki cykl daje podwojenie DNA (tej przysłowiowej igły) poszu-

kiwanego wirusa. W efekcie otrzymuje się milionowe jego zwielokrotnienie (amplifikację – stąd używanym synonimem PCR jest odczyn amplifikacji) czyli zapowiadany stóg igieł. Wykrycie tak dużej ilości DNA jest już oczywiście zadaniem prostym. Kilka słów poświęcić trzeba niezwykle ważnemu komponentowi PCR, jakim jest polimeraza Taq. Izolowano ją z termofilnego drobnoustroju, *Thermophilus aquaticus* żyjącego w gorących źródłach, jest termostabilna i zachowuje swą aktywność w temperaturach 94°C stosowanych dla rozdzielania nici DNA, dzięki czemu nie ma potrzeby dodawania nowego enzymu w każdym cyklu zwielokrotnienia (amplifikacji).

Użycie metody PCR do wykrywania wirusów posiadających RNA wymaga uprzedniego użycia odwrotnej transkryptazy, enzymu powodującego przepisanie RNA na DNA – dalszy tok postępowania jest taki, jak podano.

Mikologia

Eliminacja mikotoksyn z pasz. Według szacunków FAO światowe straty spowodowane przez pleśnie w paszach wyniosły w 1977 r. około 16 miliardów dolarów (5); w tym wyliczeniu nie uwzględniono jednak jeszcze strat powstałych w produkcji zwierzęcej po skarmieniu skażonymi paszami. Żywienie nimi zwierząt prowadzi też do zaburzeń zdrowia ludzi spożywających produkty pochodzące od zwierząt tak karmionych. Mikotoksyny mające większe znaczenie w weterynarii i w medycynie omówiono w innym opracowaniu (35).

W latach 1969–82 podejmowano prawie wyłącznie badania możliwości detoksykacji aflatoksyn (cyt. wg 5). W 1987 r. Bauer i wsp. (5) ogłosili wyniki prób eliminacji fuzariotoksyn przy użyciu metod stosowanych uprzednio w odniesieniu do aflatoksyny B₁; użyty wodorotlenek wapniowy monometylominy, Ca(OH)₂ – MMA powodował redukcję pierwotnej ilości mikotoksyny, przy wilgotności 25% w temp. 100°C przez 60 min. nawet do wartości poniżej czułości metody używanej do wykazywania toksyny.

Ostatnio Bauer (4) omówił stan badań nad możliwościami eliminacji mikotoksyn przy użyciu metod biologicznych (degradacja przez drobnoustroje), chemicznych i fizycznych; mają one na celu nie tylko zniszczenie, inaktywację lub usunięcie mikotoksyn, ale ważne jest przy tym, aby nie powstały wskutek tych zabiegów inne substancje toksyczne (zwłaszcza karcinogenne lub mutagenne). Konieczna jest także analiza ekonomiczna – obniżenie wartości paszy i uwzględnienie kosztów zabiegu, a także czy użyta metoda niszczy grzyby w tym stopniu, że nie może nastąpić ponowne ich namnożenie się. W zakończeniu artykułu Bauer (4) stwierdza, że dotychczasowe możliwości uzdatniania pasz zawierających mikotoksyny są ograniczone; dlatego głównym zadaniem w produkcji pasz winno być niedopuszczenie do powstawania mikotoksyn przez stosowanie agrotechnicznych zabiegów, jak na przykład dobór odpowiednich dla danych warunków regionalnych, gatunków roślin, płodozmian, właściwe warunki zbioru pasz, chłodne i suche ich składowanie, a także użycie konserwantów nieszkodliwych dla środowiska.

Współczesny stan wiedzy o metodach eliminacji aflatoksyn z pasz, ale głównie z mleka i produktów mlecznych zawiera też artykuł Kiszy i Domagały (25).

Immunologia

Stale wzrasta znaczenie immunologii dla wielu teoretycznych i praktycznych specjalności medycyny i weterynarii. Poznawanie nowych faktów i konieczność korygowania poglądów na istotę zjawisk od dawna obserwowanych następują tak szybko, że często nie mogą za tym nadążyć treści podręczników. Stąd wielkie znaczenie artykułów przeglądowych, zwłaszcza opracowanych przez wybitnych specjalistów, immunologów pracujących w zamożnych krajach najnowocześniejszymi metodami przy użyciu unikatowej aparatury i drogich doświadczeń na zwierzętach. Dlatego tak cenne jest ukazanie się w listopadzie 1993 r. numeru specjalnego „Świata Nauki”, będącego polskim tłumaczeniem „Scientific American”, zawierającego 10 artykułów na temat immunologii; są one bogato ilustrowane, co ułatwia ich zrozumienie, a dla zainteresowanych immunologią, mogą stanowić przedmiot podyplomowego szkolenia.

Omawianie tych artykułów przekraczałoby zakres niniejszego opracowania, warto jednak zwrócić uwagę na jeden z nich, zatytułowany „Jak układ odpornościowy rozpoznaje intruza?”, którego autorem jest Janeway (21). Wiadomo, że główne, omówione w innych artykułach (27, 29, 30) stany niewrażliwości organizmu na zakaźne czynniki to: rezystencja – stan nie związany z uprzednim kontaktem z danym zarazkiem i immunitet – niewrażliwość nabyta właśnie w następstwie kontaktu z nim (zakażenie kliniczne, zakażenie bezobjawowe) lub jego antygenami (szczepienie). Ten immunitet (odporność swoista nabyta) powstaje wskutek pobudzającego działania antygenów zarazka na limfocyty B, co wyraża się powstawaniem swoistych dla zarazka przeciwciał, i na limfocyty T, co prowadzi do rozwoju immunitetu komórkowego. Antygen łączy się z limfocytami przy udziale prezentujących go komórek (np. makrofagów i komórek dendrytycznych). Janeway (21) omawia drobiazgowo, ale zarazem w sposób bardzo poglądowy mechanizmy zachodzących zjawisk, zwracając uwagę na to, że dla pobudzenia limfocytów zarówno B, jak i T niezbędny jest, oprócz kontaktu z nimi antygeny, drugi sygnał, który dostarczać mogą inne komórki organizmu. Tym dodatkowym sygnałem są białka pojawiające się na powierzchni komórek prezentujących antygen w momencie rozpoznawania czynnika obcego przez układ odporności wrodzonej (rezystencji). Oznacza to, że właśnie ona włącza mechanizm odporności swoistej (immunitetu). To zjawisko umożliwia odróżnienie czynnika obcego od elementów własnego organizmu i dzięki temu własne antygeny nie zapoczątkowują odpowiedzi immunologicznej.

Piśmiennictwo

1. Alderman C. E.: Vet. Rec. 134, 584, 1994.
2. Anon.: Vet. Rec. 133, 27, 1993.
3. Anon.: J. Am. Vet. Med. Ass. 202, 1045, 1993.
4. Bauer J.: Mh. Vet. Med. 49, 175, 1994.
5. Bauer J., Gareis M., Detzler W., Gedek B., Heinritz K., Kabilka G.: Tierärztl. Umsch. 42, 70, 1987.
6. Binns M. M.: Brit. vet. J. 149, 21, 1993.
7. Bode L., Riegel S., Ludwig H., Amsterdam J. D., Lange W., Koprowski H.: Lancet 2, 689, 1988, Świat Nauki nr 4, 48, 1991.
8. Bode L., Steinbach F., Ludwig H.: Lancet 343, 297, 1994.
9. Brownlie J., Collins M. E., Heaton P.: Vet. Rec. 134, 289, 1994.
10. Buczek J.: Medycyna Wet. 48, 154, 1992.
11. Buxton B. A., Schultz R. D.: Canad. J. Comp. Med. 48, 365, 1984.
12. Clayton J.: Nature 367, 585, 1994.
13. DiGiacomo R. F.: Vet. Med. 87, 258, 1992.
14. DiGiacomo R. F.: Vet. Med. 87, 263, 1992.
15. Dow S. W., Dreitz M. J., Hoover E. A.: Vet. Med. 87, 1181, 1992.
16. Fiala G., Stetter K.: Arch. Microbiol. 145, 56, 1986.

17. Fiet J.: Problemy nr 11–12, 58, 1991.
18. Fikus M.: Wiedza i Życie nr 3, 17, 1994.
19. Hengartner M. O., Horvitz H. R.: Nature 369, 318, 1994.
20. Horzinek M., Keldermans L., Stuurman T., Black J., Herrewegh A., Sillekens P., Koolen M.: J. Gen. Virol. 72, 2923, 1991.
21. Janeway C. A. Jr.: Świat Nauki nr 11, 41, 1993.
22. Jaworski A., Kotelko K.: Post. Mikrobiol. 32, 157, 1994.
23. Kamiński B.: Przegl. Techn. nr 38–39, 20, 1993.
24. Kardas P.: Wiedza i Życie nr 10, 17, 1993.
25. Kiszka J., Domagala J.: Medycyna Wet. 50, 250, 1994.
26. Lam K. M.: Vet. Microbiol. 35, 133, 1993.
27. Larski Z.: Immunol. Polska 12, 223, 1987.
28. Larski Z.: Medycyna Wet. 44, 579, 1988.
29. Larski Z.: Życie Wet. 65, 1, 1990.
30. Larski Z.: Biul. Nauk. ART Olsztyn nr 8, 115, 1991.
31. Larski Z.: Diagnostyka wirusologiczna chorób zwierząt. PWRiL, Warszawa 1992.
32. Larski Z.: Medycyna Wet. 48, 243, 1992.
33. Larski Z.: Medycyna Wet. 48, 438, 1992.
34. Larski Z.: Medycyna Wet. 50, 8, 1994.
35. Larski Z., Truszczyński M.: Zarys mikrobiologii weterynaryjnej. Dział Wydawnictw ART, Olsztyn 1992.
36. Lipton S. A.: Nature 367, 113, 1994.
37. Ludngren A. L., Czech G., Bode L., Ludwig H.: J. Vet. Med. B 40, 298, 1993.
38. Luzzi I., Pezzella C., Caprioli A., Covacci A., Bugnoli M., Censini S.: Lancet 341, 1348, 1993.
39. McCardell B., Madden J. M., Lee E. C.: J. Food Protect. 47, 943, 1984.
40. McNab W. B., Jacobs R. M., Smith H. E.: Canad. J. Vet. Res. 58, 36, 1994.
41. Miederer S. E.: Selecta Medizin aktuell 36 (12), 18, 1994.
42. Mullis K.: Problemy nr 11–12, 68, 1991.
43. Ohno K., Okamoto Y., Miyazawa T., Mikami T., Watari T., Goitsuka R., Tsujimoto H., Hasegawa A.: Arch. Virol. 135, 153, 1994.
44. Pekelder J. J., Veenink G. J., Akkermans J. P. W., van Eldik P., Elving L., Houwers D. J.: Vet. Rec. 134, 348, 1994.
45. Polak M. P., Żmudziński J. F.: Medycyna Wet. 50, 102, 1994.
46. Spencer L.: J. Am. Vet. Med. Ass. 202, 1043, 1993.
47. Takizawa T., Matsukawa S., Higuchi Y., Nakamura S., Nakanishi Y., Fukuda R.: J. Gen. Virol. 74, 2347, 1993.
48. Tarczyński S. (red.): Zarys historii polskiej weterynarii z podstawami deontologii. PWN, Warszawa 1990.
49. Toggas S. M., Masliah E., Rockenstein E. M., Rall G. F., Abraham C. R., Mucke L.: Nature 367, 188, 1994.
50. Trautwein G.: Vet. Microbiol. 33, 19, 1992.
51. Whipp S. C., Rasmussen M. A., Cray W. C.: J. Am. Vet. Med. Ass. 204, 1168, 1994.
52. Wyllie A. H., Kerr J. F. R., Currie A. R.: Intern. Rev. Cytol. 68, 251, 1980.
53. Wyllie A. H.: Nature 369, 272, 1994.
54. Yin X-M., Olval Z. N., Korsmeyer S. J.: Nature 369, 321, 1994.

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

PATON M. W., ROSE I. R., HART R. A., SUTHERLAND S. S., MERCY A. R., ELLIS T. M., DHALI WAL J. A.: Nowe zakażenie *Corynebacterium pseudotuberculosis* obniża wydajność wełny. (New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production). Aust. Vet. J. 71, 47–49, 1994 (2)

Serowacujące zapalenie węzłów i naczyń chłonnych (CLA) wywołane przez *Corynebacterium pseudotuberculosis* przebiega u owiec w chronicznej formie i powoduje znaczne straty w produkcji mięsa. Okazało się też, że CLA obniża wydajność wełny. Wskazują na to badania przeprowadzone w trzech stadach owiec. Owce w każdym stadzie na dwa miesiące przed pozyskaniem runa przebadano w odczynie ELISA w kierunku CLA. Zakażenie *C. pseudotuberculosis* powodowało 3,8–4,8% obniżkę wydajności wełny surowej i 4,1–6,6% spadek wydajności wełny oczyszczonej. Zakażenie nie wpływało jednakże na średnicę włosa. Roczne straty w produkcji wełny wynoszą w Australii na skutek CLA 17 milionów dolarów.