

PL ISSN 0033-2100

PRZEGLĄD EPIDEMIOLOGICZNY

ORGAN
PAŃSTWOWEGO ZAKŁADU HIGIENY
I
POLSKIEGO TOWARZYSTWA EPIDEMIOLOGÓW
I LEKARZY CHORÓB ZAKAŹNYCH

KWARTALNIK

*

SUPLEMENT 2/2001

TOM 55

WARSZAWA

ROK 2001

PAŃSTWOWY

ZAKŁAD

HIGIENY

Państwowy Zakład Higieny
Zakład Epidemiologii

Ogólnopolska Konferencja Naukowa
NOWOPOJAWIAJĄCE SIĘ, NAWRACAJĄCE
I BIOTERRORYSTYCZNE ZAGROŻENIA
ZE STRONY ZAKAŻNYCH CHOROŚĆ
ODZWIERZĘCYCH

Konferencja organizowana
pod honorowym patronatem Ministra Zdrowia
prof. dr hab. Grzegorza Opali
z inicjatywy Głównego Inspektora Sanitarnego
dr Pawła Policzkiewicza

Redaktor publikacji
Jacek Mazurek

KOMITET HONOROWY

Przewodniczący:

Grzegorz Opala

Minister Zdrowia

Członkowie:

Robert Gmyrek

Sekretarz Stanu
w Ministerstwie Rolnictwa
i Rozwoju Wsi

Andrzej Komorowski
Paweł Policzekiewicz
Marek Siwiec

Główny Inspektor Weterynarii
Główny Inspektor Sanitarny
Sekretarz Stanu w Biurze
Bezpieczeństwa Narodowego

KOMITET NAUKOWY

Przewodniczący:

Marian Truszczyński

Członkowie:

Michał Bartoszcze
Krzysztof Chomiczewski
Zdzisław Dziubek
Andrzej Gładysz
Waldemar Halota
Jacek Juszczyk
Wiesław Magdzik
Danuta Naruszewicz-Lesiuk
Jan Źmudziński

KOMITET ORGANIZACYJNY

Przewodniczący:

Andrzej Zieliński

Członkowie:

Włodzimierz Ehrenkreutz
Joanna Galimska
Elżbieta Łabuńska
Jacek Mazurek
Jolanta Rudowska
Małgorzata Sadkowska-Todys

SPIS TREŚCI

Sesja I: „Zagrożenie chorobami odzwierzęcymi poprzez żywność”

B Wojtoń. Odzwierzęce zakażenia szerzące się drogą pokarmową	1
J Rzedzicki, M Boś. Sytuacja epizootyczna patogenów zakażeń pokarmowych (salmonelozy)	5
R Głównicka. Rola i zadania Krajowego Ośrodka Salmonella	13
J Uradziński. Escherichia coli 0157 u bydła na terenie Polski	19
TH Dżeński. Odzwierzęce choroby pasożytnicze szerzące się poprzez żywność w Polsce: metody wykrywania pasożytów	27

Sesja II: „Encefalopatie gąbczaste”

R Bradley. Obecna sytuacja badań nad pasożoalnymi encefalopatiami gąbczastymi	37
B Litwińska. Priony – nowy czynnik zakaźny	61
W Magdzik. Encefalopatie gąbczaste (choroby prionowe) ludzi	67
W Magdzik. Encefalopatie gąbczaste (choroby prionowe) zwierząt	71
J Kulczycki. Diagnostyka kliniczna choroby Creutzfeldta-Jakoba i jej odmian	75
J Mazurek. Epidemiologiczne przewidywanie zagrożeń chorobami prionowymi w Polsce	79
M Gajęcki. Znaczenie mączek mięsno-kostnych a zagrożenia BSE	83

Sesja III: „Wścieklizna”

D Seroka. Wykonawstwo szczepień ludzi przeciw wściekliznie w Polsce w latach 1990–1999	89
D Seroka. Zagrożenie ludzi wścieklizną w Polsce	95
M Sadkowska-Todys. Przyżyciowa diagnostyka wścieklizny u ludzi w Polsce	101
M Sadkowska-Todys. Relacje genetyczne i antygenowe między szczepem pasteurowskim a aktualnie krążącymi szczepami ulicznymi	105
R Raczkowski, CV Trimarchi. Raccoon (<i>Procyon lotor</i>) rabies epizootic in New York State	111

Sesja IV: „Gorączki krwotoczne i choroby przenoszone przez wektory”

J Juszczyk. Patogeneza gorączek krwotocznych	119
D Seroka. Hantawirusowa europejska gorączka krwotoczna	127
W Halota, M Pawłowska. Obrazy kliniczne wybranych wirusowych gorączek krwotocznych	133
S Tylewska-Wierzbanowska. Epidemiologia boreliozy z Lyme w Polsce	141
A Gliniewicz. Komary jako wektory arbowirusów w Polsce	143
B Mizak, J Król. Borelioza u zwierząt	149

Sesja V: „Bioterroryzm”

J Mierzejewski, DR Franz, R Zajtchuk. Rodzaje patogenów, które mogą być użyte w ataku bioterrorystycznym	159
--	-----

H Arciuch. Stale aktualne zagrożenie – węglik	169
W Palec, P Rusecki, M Bartoszcze. Jad kielbasiany jako środek bioterrorystyczny	181
S Tylewska-Wierzbanowska. Riketsjozy o potencjale bioterrorystycznym	189
M Bartoszcze. Możliwości rozpoznania zagrożeń biologicznych	191
R Łakomy. Wykrywanie czynników ataku bioterrorystycznego metodą pirolitycznej chromatografii gazowej	197
K Chomiczewski. Zasady postępowania w przypadku ataku bioterrorystycznego	201
J Bzdęga. Wojskowe zabiegi specjalne w zastosowaniu do likwidacji ataku bioterrorystycznego na skalę masową	207

Sesja VI: „Choroby odzwierzęce zawleczone do Polski”

J Kita. Zagrożenia zdrowotne chorobami odzwierzęcymi przeniesionymi przez zwierzęta lub materiał pochodzenia zwierzęcego	213
B Windyga. Prawne, organizacyjne i diagnostyczne podstawy nadzoru nad żywnością	217
J Szymborski. Zasady nadzoru nad importem zwierząt i produktami pochodzenia zwierzęcego	219

BOLESŁAW WOJTOŃ

ODZWIERZĘCE ZAKAŻENIA SZERZĄCE SIĘ DROGĄ POKARMOWĄ

Państwowy Instytut Weterynaryjny

Zakażenia odzwierzęce, przenoszone drogą pokarmową mogą być wywoływane przez bakterie, wirusy, priony, pasożyty oraz biotoksyny.

Do najczęściej występujących czynników pokarmowych zakażeń bakteryjnych można zaliczyć:

Salmonella spp. Pałeczki tlenowe, za wyjątkiem *S. Gallinarum* ruchliwe, gram-ujemne. Występują w środowisku zwierzęcym, szczególnie u drobiu i świń. Środowiskowymi źródłami zarazki są woda, gleba, owady, odchody zwierzęce, pasze. Wywołują zatrucia pokarmowe z objawami nudności, wymiotów, bólów brzucha, głowy, biegunki, gorączki, które występują w 6-48 godzin po spożyciu zanieczyszczonych pokarmów.

Drobnoustroje najczęściej występują w surowej wieprzowinie i wołowinie, drobiu, jajach, mleku i przetworach mlecznych, rybach, krewetkach, różnego rodzaju sosach, ciastach, czekoladach. W naszym kraju najczęściej zatruc pokarmowych u ludzi wywołują salmonelle występujące u drobiu i w jajach.

Shigella spp. Pałeczki, nieruchome, gram-ujemne występujące u zwierząt i ludzi, często izolowane z wody zanieczyszczonej odchodami ludzi i zwierząt. Niektóre szczepy wytwarzają enterotoksynę i toksynę Shiga, bardzo podobną do werotoksyny *E. coli* 0157:H7. Wywołują zatrucia pokarmowe u ludzi objawiające się wymiotami, krwawą biegunką, bólami brzucha, gorączką. Zatrucia najczęściej występują po spożyciu różnego rodzaju sałatek zawierających ziemniaki, ryby, krewetki, mięso drobiu. Ponadto jako wektor wymieniane jest także mleko, warzywa i drób.

Escherichia coli (grupa EEC). Dotychczas określono cztery klasy enterowirulentnych drobnoustrojów do których należą: enteropathogenic *E. coli* (EPEC), wywołuje biegunki u niemowląt, enteroinvasive *E. coli* (EIEC), powoduje dysenterie podobne do wywoływanych przez *Shigella spp.*, enterotoxigenic (ETEC), odpowiedzialny za stany zapalne jelit i żołądka popularnie zwanymi biegunką podróźnych i enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), wywołuje krwiotoczne zapalenia okrężnicy oraz syndrom hemolitycznej uremii (HUS). Drobnoustroje mają kształt pałeczek, są gram-ujemne, zasiedlają przewody pokarmowe ludzi i zwierząt, skąd przedostają się do środowiska za pośrednictwem odchodów. Z tego powodu są uważane za wskaźnik higieny, ponieważ ich obecność w żywności wskazuje na bezpośredni kontakt z przewodem pokarmowym ludzi i zwierząt. Zakażenia i zatrucia pokarmowe u ludzi zdarzają się po spożyciu niehigienicznie przygotowanej i przechowywanej żywności. Najczęściej jest to mięso, drób, mleko, przetwory mleczne i warzywa.

Clostridium botulinum. Beztlenowe laseczki przetrwalnikujące, gram-dodatnie, termooporne, wytwarzające najsilniejszą w przyrodzie neurotoksynę. Występuje siedem odmian od A do G, różnicowanych na podstawie właściwości antygenowej toksyn. Typy A, B, E i F wywołują zatrucia u ludzi, natomiast typ C i D wywołuje zachorowania u zwierząt. Zatrucia pokarmowe zwane botulinizmem są typową intoksykacją spowodowaną neurotoksyną wytworzoną przez *C. botulinum* występującym w żywności. Drobnoustroj znajduje dobre warunki rozwoju i produkcji toksyn w nisko kwaśnej żywności ($\text{pH} > 4,6$). Toksyny botulinowe stwierdzane były w szerokim asortymencie żywności pochodzenia roślinnego i zwierzęcego.

Clostridium perfringens. Beztlenowa, przetrwalnikująca gram-dodatnia laseczka występująca w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt domowych i dzikich. Przetrwalniki znajdują się w glebie, osadach cieków i zbiorników wodnych i świadczą o zanieczyszczeniu odchodami ludzkimi i zwierzęcymi. Zatrucia pokarmowe powodowane przez *C. perfringens* występują w krótkim czasie po spożyciu zanieczyszczonej żywności (8–22 godz.) i są typowymi intoksykacjami objawiającymi się bólami brzucha, biegunką i ogólnym osłabieniem. Cięższe przypadki wywoływane przez *C. perfringens* typ C charakteryzują się martwicowym zapaleniem jelit. Zatrucia mają miejsce najczęściej po spożyciu mięsa, produktów mięsnych i rosółów źle wychłodzonych, w których nastąpił rozwój drobnoustrojów i wytworzenie enterotoksyny podczas ich przetrwalnikowania.

Staphylococcus aureus. Ziarniaki uformowane w grona, gram-dodatnie, niektóre szczepy wytwarzają termooporną enterotoksynę wywołującą zatrucia pokarmowe u ludzi z objawami nudności, wymiotów, skurczów brzucha i ogólnego osłabienia. W ostrych przypadkach dołączają się ponadto bóle mięśni, głowy, podwyższone ciśnienie i przyspieszenie tętna. Wyzdrowienie następuje zwykle po 2–3 dniach. Zejścia śmiertelne występują bardzo rzadko i dotyczą ludzi starszych i dzieci. Pierwotnym rezerwuarem zarazka są ludzie i zwierzęta. Zatrucia zdarzają się po spożyciu mięsa i produktów mięsnych, drobiu, jaj, różnego rodzaju sałatek, lodów i ciast, przy produkcji których wystąpiły zaniedbania higieniczne i doszło do zanieczyszczenia gronkowcami. Zanieczyszczenia te coraz częściej uznawane są za wskaźnik higieny produkcji.

Campylobacter jejuni. Drobnie, obdarzone ruchem, gram-ujemne, lekko zakrzywione pałeczki. Do wzrostu wymagają obniżonej zawartości tlenu (3–5%) i dwutlenku węgla (2–10%). Występują w środowisku zwierzęcym, izolowane były od zdrowych cieląt, krow, kurcząt i innych ptaków, a nawet much. Występują także w środowisku wodnym. Uważane są za ważny czynnik schorzeń jelitowo-żołądkowych u ludzi zwanych kampylobakteriozą. W wielu krajach a zwłaszcza w USA *C. jejuni* zaliczany jest do wiodących czynników wywołujących zatrucia pokarmowe, przekraczających liczebnie razem wzięte zatrucia, wywołane przez drobnoustroje rodzajów *Shigella* i *Salmonella*. Najczęstszą przyczyną kampylobakteriozy jest spożywanie potraw z drobiu i surowego mleka.

Yersinia enterocolitica. Małe pałeczko-podobne, gram-ujemne bakterie. Naturalnym rezerwuarem zarazka są zwierzęta jak świny, drób, koty, psy, bobry oraz środowisko wodne (stawy, jeziora). *Y. enterocolitica* jest przyczyną zatruc pokarmowych objawiających się biegunką, wymiotami, bólami brzucha i gorączką. Choroba występuje zwykle w 24 do 48 godzin po spożyciu zainfekowanej żywności. Przyczyną zatruc może być niewłaściwie obrabione termicznie mięso, drób, ryby, jaja, mleko.

Listeria monocytogenes. Pałeczki, ruchliwe, gram-dodatnie. Badania wykazują, że 1–10% ludzi jest ich bezobjawowym nosicielem, ale głównym rezerwuarem zarazka są zwierzęta domowe i dzikie. Do nich należy co najmniej 37 gatunków ssaków, 17 gatunków ptaków, niektóre gatunki ryb i skorupiaków. Ponadto występuje w glebie, kiszonce i innych paszach. Drobnoustrój powoduje zachorowania u ludzi zwane listeriozą, najczęściej objawiającą się zapaleniem opon mózgowych i mózgu, poronieniami u kobiet. W czasie choroby mogą wystąpić objawy jelitowo-żołądkowe jak nudności, wymioty i biegunka. Choroba może mieć przebieg ciężki przy śmiertelności do 70%.

Wystąpienia choroby łączone są ze spożyciem surowego mleka, serów typu cottage, lodów, produktów mięsnych, drobiu, surowych i wędzonych ryb. Zdolność wzrostu zarazka w temp. do 3°C umożliwia jego rozwój podczas przechowywania żywności w chłodniarce.

Bacillus cereus. Tlenowa, względnie duża laseczka przetrwalnikująca, gram-dodatnia rozprzestrzeniona bardziej w środowisku roślinnym niż zwierzęcym. Drobnoustrój, oprócz wywoływania zatruc pokarmowych, odnotowany został jako przyczyna stanów zapalnych wymion u krów, infekcji ropnych u zwierząt, ropni w płucach i zapalenia osierdzia. Zatrucia pokarmowe u ludzi objawiają się biegunką, bólami brzucha występującymi w 6 – 15 godzin po spożyciu zanieczyszczonej żywności do której należy mięso, mleko, warzywa, ryby i potrawy mączne.

Aeromonas hydrophila. Pałeczka występująca w wodach słodkich i słonawych, powodująca schorzenia u ryb i innych zwierząt wodnych. Istnieje coraz więcej dowodów wskazujących na ten drobnoustrój jako przyczynę zatruc pokarmowych u ludzi z objawami żołądkowo-jelitowymi. Dotychczas stwierdzono zatrucia u ludzi po spożyciu ryb i skorupiaków, ale także wołowiny, wieprzowiny i drobiu w których stwierdzano *A. hydrophila*.

Pierwotniaki i robaki (wybrane przykłady)

Gardia lamblia (intestinalis). Pierwotniak, który jest częstą przyczyną biegunki u ludzi w Północnej Ameryce. Pasożyt występuje u zwierząt domowych i dzikich. Zachorowania u ludzi mają miejsce po spożyciu zanieczyszczonej pasożytami wody i żywności.

Cryptosporidium parvum. Pierwotniak, występuje u owiec, kóz, bydła, jeleni, łosi. U ludzi wywołuje schorzenia przewodu pokarmowego, tchawicy i płuc. Pasożyt może być obecny w każdym rodzaju żywności. Odnotowane schorzenia u ludzi łączone były z zanieczyszczoną zarazkami wodą.

Anisakis spp. Nicienie występujące w mięśniach wielu gatunków ryb. Ze znanych w Polsce gatunków, stwierdzany jest w śledziach, dorszach i flądach. U ludzi powoduje stany zapalne przewodu pokarmowego. Obfite inwazje są bardzo bolesne i często wymagają interwencji chirurgicznej. Zakażenie następuje po spożyciu zarażonych ryb w stanie surowym lub po niedostatecznej obróbce termicznej.

Diphyllobothrium spp. Powszechnym przedstawicielem tego gatunku jest bruzdogłowiec szeroki, tasiemiec osiągający w żywicieli ostatecznym do 20 m długości. Człowiek zaraża się tym tasiemcem po spożyciu surowych lub niedogotowanych ryb zawierających stadia pośrednie pasożyta plerocercoidy.

Trichinella spiralis. Nicień szeroko rozprzestrzeniony w środowisku zwierzęcym. Zatrucie ludzi tym nicieniem następuje po spożyciu nie badanego mięsa lub przetworów mięsnych uzyskanych ze świń, dzików, nutrii i koni.

Wirusy (wybrane przykłady)

Rotavirusy. Z sześciu zidentyfikowanych grup, trzy (A, B, C) mają znaczenie z punktu widzenia zatruć pokarmowych ludzi. Wymienione wirusy mogą wywoływać stany zapalne przewodu pokarmowego u dzieci i ludzi dorosłych z występowaniem biegunki. Przenoszenie wirusów może następować drogą doustną za pośrednictwem żywności.

Inne wirusy. Schorzenia żołądkowo jelitowe mogą wywoływać wirusy należące do rodziny Norwalk a także astrowirusy, calciwirusy, adenowirusy i parwowirusy.

Priony. Do chorób prionowych możliwych do przeniesienia na człowieka za pośrednictwem żywności należy gąbczaste zapalenie mózgu (BSE)

Biotoksyny

Histamina. Powstaje w wyniku bakteryjnego rozkładu białek zwierzęcych. Nadmierne jej ilości gromadzą się w tkance mięśniowej ryb i w dojrzewających serach. Produkty zawierające powyżej 100 mg/kg histaminy mogą wywoływać zatrucia pokarmowe u ludzi.

Biotoksyny morskie (marine biotoxins). Do tej grupy toksyn należą określane w terminologii angielskiej jako ciguatera fish poisoning (CFP), amnesic shellfish poisoning (ASP) i diarrhetic shellfish poisoning (DSP). Źródłem toksyn wywołujących wymienione zatrucia u ludzi są algi którymi żywią się ryby i skorupiaki. W związku z zagrożeniem zatruć pokarmowych biotoksynami, w krajach UE powołane zostały Dyrektywą 93/383/EEC referencyjne laboratoria do monitorowania biotoksyn morskich i innych.

Przedstawiony przegląd zakażeń odzwierzęcych szerzących się drogą pokarmową, z przyczyn technicznych nie wyczerpuje całości problemu, a jedynie przybliża go w stopniu umożliwiającym uzmysłowienie zagrożeń związanych ze spożywaniem żywności pochodzenia zwierzęcego.

Opracowano na podstawie:

U.S. Food & Drug Administration, Center for Food Safety & Applied Nutrition, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook
<http://vm.cfsan.fda.gov/mov.intro.html>

Adres autora:

Bolesław Wojtoń

Państwowy Instytut Weterynaryjny

Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

JERZY RZEDZICKI, MAŁGORZATA BOŚ

SYTUACJA EPIZOOTYCZNA PATOGENÓW ZAKAŻEŃ POKARMOWYCH (SALMONELOZY)

Katedra Profilaktyki Ogólnej i Chorób Ptaków
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej w Lublinie
Kierownik: J. Rzedzicki

Pałeczki *Salmonella* stanowią jeden z rodzajów rodziny Enterobacteriaceae. Są to drobnoustroje bardzo rozpowszechnione w przyrodzie. Ich występowanie stwierdzono u bezkręgowców, zwierząt kręgowych a także u człowieka. Ważnym rezerwuarem tych bakterii jest środowisko bytowania zwierząt i ludzi.

W obrębie rodzaju *Salmonella* wyróżnia się ponad 2 000 serowarów. Wszystkie serowary uważa się za potencjalnie chorobotwórcze dla ludzi i zwierząt, jednakże ważną rolę w aspekcie zagrożenia zdrowia publicznego odgrywają tylko niektóre. W krajach Ameryki Północnej oraz Europy, począwszy od połowy lat '80, najważniejsze znaczenie epidemiologiczne mają odzwierzęce serowary *Salmonella* wywołujące zatrucia i zakażenia pokarmowe (toksykoinfekcje pokarmowe). Według danych opublikowanych przez amerykańskie Centrum Kontroli i Zapobiegania Chorób (Centers for Disease Control and Prevention), w USA w latach 1993–97 serowarem odpowiedzialnym za ponad połowę (55%) zachorowań na salmonelozę była *S. Enteritidis* (1). W Polsce w okresie 1990–98 udział *S. Enteritidis*, w ogniskach zbiorowych zatruc i zakażeń pokarmowych, wynosił ponad 90%. Dalsze miejsca zajmowały: *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Indiana*, *S. Hadar* i inne (2, 3).

Salmonelozę należą do klasycznych antropozoonoz. Na podstawie danych epidemiologicznych opracowanych przez Przybylską (3) można wnioskować, że w Polsce w 1998r około 77% toksykoinfekcji, spowodowanych przez odzwierzęce pałeczki *Salmonella*, w ogniskach zbiorowych zatruc i zakażeń pokarmowych było następstwem konsumpcji produktów spożywczych pochodzących od drobiu. Przyczyną zachorowań były przede wszystkim potrawy zawierające w swoim składzie jaja. Ich udział wynosił około 74%. Na pierwszoplanową rolę jaj jako nośnika odzwierzęcych pałeczek *Salmonella*, a w szczególności *S. Enteritidis* wskazują również badania prowadzone w innych krajach (1, 4, 5).

S. Enteritidis wyizolowano po raz pierwszy od drobiu w 1935 r., jednakże przez wiele lat zarazek ten nie odgrywał znaczącej roli w patologii drobiu. Przez długi okres czasu od ptaków, zwłaszcza grzebiących najczęściej izolowano *S. Gallinarum* – *Pullorum*, serowar bardzo patogenny dla ptaków, powodujący duże straty w ich hodowli, natomiast nie przedstawiający większego zagrożenia dla zdrowia człowieka. Sytuacja ta zmieniła się radykalnie począwszy od roku 1986, kiedy wykazano, że *S. Enteritidis* jest częstym i groźnym patogenem u drobiu w Wielkiej Brytanii (6, 7). W 1988 r. Rampling

i wsp. (8) wyizolowali *S. Enteritidis* od 58% kurcząt brojlerów wykazujących zapalenie worka osierdziowego. Zakażenia *S. Enteritidis* zdiagnozowano również w stadach reprodukcyjnych drobiu oraz u niosek jaj konsumpcyjnych. W kolejnych latach obserwowano stałe narastanie częstości zakażeń *S. Enteritidis* u drobiu także w innych krajach europejskich oraz USA. Z badań Ebel i wsp. (9) wynika, że w USA w 1990 r. odsetek stad niosek jaj konsumpcyjnych, zakażonych *S. Enteritidis* wahał się, w zależności od regionu kraju, od 3 do 45%. Znamiennym jest fakt, że rozprzestrzenianie się zakażeń *S. Enteritidis* u drobiu, podobnie jak i u ludzi, było związane z dominacją niektórych typów fagowych tej bakterii. W Europie za większość zakażeń ludzi i drobiu odpowiedzialny był typ fagowy 4, natomiast w Ameryce Północnej typy 8 i 13a (4, 5, 8, 9).

Badania przeprowadzone w latach '90 w Polsce wskazują, że salmonelozy stanowią aktualny i poważny problem w krajowej produkcji drobiarskiej. Z wyników badań Zakładów Higieny Weterynaryjnej w całym kraju, zebranych i opracowanych przez Kubińskiego i Kozanecką (10), wynika, że w okresie 1992–97 zakażenia pałeczkami *Salmonella* stwierdzano najczęściej na terenach Polski zachodniej, przy czym odsetek zakażonych ptaków wahał się w przybliżeniu od 19–16% (ZHW w Szczecinie i Wrocławiu) do 10% (ZHW w Poznaniu i Opolu). Mniejszy stopień zakażenia – około 8–11% wykazano na terenach północno – wschodnich (ZHW w Białymstoku i Suwałkach, WWLD w Ostrołęce), a najmniejszy – około 1–3% w części południowo – wschodniej (ZHW w Lublinie i Krakowie, WWLD w Nowym Sączu). Ponadto stwierdzono, że na terenie kraju występują enklawy o stosunkowo wysokim odsetku zakażeń np. obszar dawnego województwa siedleckiego.

Pałeczki *Salmonella* wyizolowane od drobiu w Polsce reprezentowały cztery grupy serologiczne: BO, CO, DO i EO. Szczegółowa identyfikacja szczepów, prowadzona dotychczas tylko przez niektóre ośrodki, wykazała, że serowarem dominującym była *S. Enteritidis* (grupa DO). Rzedzicki i Pawelec (11) podają, że w okresie 1991–95 udział tego serowaru w etiologii salmoneloz ptaków grzebiących (głównie kur) na terenie Polski wschodniej wynosił 64%. W mniejszym stopniu przyczyną zakażeń była *S. Gallinarum* – Pullorum (18%) i *S. Typhimurium* (14%). Wśród salmonel wyosobnionych od drobiu, pochodzącego z obszaru dawnego województwa gdańskiego i elbląskiego w latach 1990–96, *S. Enteritidis* stanowiła 84,51%, rzadziej izolowano również: *S. Choleraesuis* – 11,95%, *S. Typhimurium* – 3,39% i salmonele z grupy EO – 0,15% (12). Z kolei według ZHW w Białymstoku w latach 1996–97 udział *S. Enteritidis* w etiologii salmoneloz u kur wynosił aż 100% (13).

Badania przeprowadzone na terenie Dolnego Śląska w okresie 1996–98 wykazały, że najwyższy poziom zakażenia pałeczkami *Salmonella* przedstawiały pisklęta w wieku do 3 dnia życia (13,7% stad zakażonych), nieco niższy wskaźnik zakażenia cechował kurczęta rzeźne (12,2%), zaś najniższy był on w stadach kur niosek reprodukcyjnych (8,8%). Badania te również wskazały, że u kur zdecydowanie najczęściej występowała *S. Enteritidis* (około 76–100% wszystkich izolacji) (14).

Stopień zakażenia stad indyków w Polsce, według Koncickiego i wsp. (15) wahał się od 2,29% w 1992r. do 10,4% w 1996r. i był znacznie niższy w porównaniu z częstością zakażeń stwierdzaną u tego gatunku drobiu w Kanadzie i USA. Zdaniem autorów indyki w analizowanym okresie nie stanowiły głównego źródła zatruc pokarmowych

ludzi, gdyż spośród 14 wyizolowanych serowarów *Salmonella*, najczęściej wykrywanym była *S. Saint-Paul* (35,59%).

Salmonelozy należą do jednych z częściej rozpoznawanych chorób u drobiu wodnego, jednakże z uwagi na fakt, że jaja gęsi i kaczek nie są przeznaczone do celów konsumpcyjnych, ptaki te w mniejszym stopniu niż kury stanowią źródło zakażenia dla człowieka. Według Wieliczko i Mazurkiewicza (16) oraz Tomczyka (17) u gęsi w kraju stwierdza się obecnie najczęściej zakażenia *S. Typhimurium* (60,5%), natomiast u kaczek dominuje *S. Enteritidis* (51,7%). Z kolei według ZHW w Białymstoku wysoki odsetek zakażeń *S. Enteritidis* dotyczy także gęsi (50% izolacji) (13).

Pałeczki *Salmonella* często izoluje się nie tylko od drobiu, ale również od innych zwierząt hodowanych w celu pozyskania żywności dla ludzi. Z badań Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Gdańsku (12) wynika, że w okresie 1990–96 odsetek izolacji salmonel od trzody chlewnej wynosił 15,62%, rzadziej bakterie te wykrywano u bydła (5,2%). W odróżnieniu od drobiu, u trzody chlewnej i bydła *S. Enteritidis* nie była serowarem dominującym. Pod względem częstości izolacji, u tych gatunków zwierząt *S. Enteritidis* plasowała się na czwartym miejscu (około 3–6%). Miejsca czołowe u trzody chlewnej zajmowały w kolejności *S. Choleraesuis* (66,15%), *S. Typhimurium* (22,83%) i *S. Dublin* (7,87%), natomiast u bydła odpowiednio – *S. Dublin* (46,88%), *S. Typhimurium* (28,12%) i *S. Choleraesuis* (18,75%).

Zakażenie drobiu salmonelami może zachodzić różnymi drogami. Szczególnie ważne znaczenie w aspekcie epizootycznym ma możliwość pionowej (transowarialnej) transmisji zarazków ze stad reprodukcyjnych przez jaja wylęgowe na potomstwo. U zakażonych niosek pałeczki *Salmonella* mogą umiejscawiać się w jajniku, jajowodzie lub na otrzewnej, a stąd przenikać do rozwijających się jaj. Taki mechanizm transmisji wykazano w przypadku *S. Galinarum* – Pullorum a także *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* oraz *S. Heidelberg* (6,18). Obserwacje prowadzone w przebiegu naturalnych infekcji kur niosek *S. Enteritidis* wskazują, że jaja zawierające ten zarazek w swojej zawartości pojawiają się okresowo, zwykle z większą częstotliwością w początkowej fazie nieśności stada. Odsetek jaj zakażonych nie przekracza najczęściej 1,1%, a liczba komórek salmonel w takich jajach jest mała (poniżej 10 komórek w zawartości jednego jaja) (4, 5). Badania sugerują możliwość wykluwania się pojedynczych piskląt zakażonych transowarialnie, które następnie stają się siewcami i sprawcami horyzontalnego szerzenia się zakażenia. Szacuje się, że odsetek nowo wyklutych piskląt siewców pałeczek *Salmonella* wynosi około 2% (19).

Bichler i wsp. (20) potwierdzają możliwość transowarialnej transmisji *S. Enteritidis*, jednakże uważają, że większość zakażeń jaj jest spowodowana zanieczyszczeniem salmonelami zewnętrznej powierzchni skorupy z następującą po tym penetracją zarazków przez skorupę do wnętrza jaja. Z 218 jaj zakażonych, badacze izolowali salmonele najczęściej ze skorup (92%). Obecność *S. Enteritidis* tylko w białku stwierdzili w przypadku 1 jaja, zaś tylko w żółtku – w 6 jajach. Według Humphreya (cyt. za 7) z jaj pozyskanych od niosek zakażonych salmonelami, bakterie te izoluje się z 5–7% skorup i nie więcej niż 0,3% zawartości jaj.

Pałeczki *Salmonella* szybko przenoszą się drogą poziomą z zakażonych piskląt na ptaki nie zakażone przebywające w ich otoczeniu. Sprzyja temu intensywny system produkcji drobiarskiej oparty na przemysłowej technologii sztucznych lęgów oraz cho-

wie fermowym związanym z koncentracją dużej liczby osobników na małej przestrzeni. W kłujniku zakładu wylęgowego zakażenie szerzy się łatwo przez układ oddechowy. Źródłem infekcji są najczęściej odchody zakażonych piskląt, które zanieczyszczają komorę kłujnikową, sprzęt do obsługi oraz kontenery transportowe. Na fermie do zakażenia dochodzi głównie poprzez przewód pokarmowy, a źródłem infekcji jest szeroko rozumiane środowisko utrzymania ptaków zanieczyszczone pałeczkami *Salmonella* (kurniki, pasza, woda, ściółka, sprzęt, owady, obsługa, itp.). Istotną rolę w rozprzestrzenianiu salmonelozy na terenie ferm odgrywają dziko żyjące gryzonie, które same rzadko chorują, ale często są nosicielami i siewcami salmonel, zwłaszcza *S. Enteritidis*. Ważnym ogniwem w łańcuchu epizootycznym są także ptaki wolno żyjące. Zdolność lotu, łatwość przemieszczania się na duże odległości, łatwa dostępność do domostw ludzkich, gospodarstw i wysypisk śmieci to specyficzne cechy tej grupy ptaków czyniące je doskonałym „środkiem transportu” dla różnych patogenów, w tym też pałeczek z rodzaju *Salmonella* (7, 21).

Pasza uważana jest za potencjalne źródło zakażenia drobiu salmonelami, jednakże wartym zauważenia jest fakt, że *S. Enteritidis*, serowar obecnie najczęściej izolowany od ptaków, stosunkowo rzadziej jest wykrywany w paszy i komponentach paszowych. Badania przeprowadzone przez ZHW w Gdańsku w latach 1991–96 wykazały, że najwyższy poziom zanieczyszczenia salmonelami przedstawiały mączki mięsno-kostne (5,11%), mączki rybne (4,48%) oraz koncentraty białkowo-tłuszczowe (4,31%), a najczęściej izolowanymi serowarami były *S. Choleraesuis* (21,7–66%) oraz *S. Typhimurium* (9–16,1%). Udział *S. Enteritidis* kształtował się na niższym poziomie i wahał się w zakresie od 4 do 11,2% (22). Za stwierdzeniem, że pasze nie są podstawowym źródłem salmonelozy drobiu przemawiają też wyniki badań uzyskane przez inne ośrodki w kraju (10, 23).

Rozprzestrzenianiu się zakażeń na fermach drogą poziomą sprzyja częste bezobjawowe nosicielstwo i długotrwałe siewstwo salmonel. Badania Błaszczaka i Binka (19) nad infekcją kur niosek reprodukcyjnych *S. Enteritidis* wykazały, że w zakażonym stadzie około 7% niosek było siewcami zarazka, a odsetek nosicieli był jeszcze wyższy i spośród nich w kolejnych tygodniach ujawniali się potencjalni siewcy. Podczas 5 tygodniowego okresu obserwacji stwierdzono, że około 9% ptaków ujawniło się jako siewcy *S. Enteritidis*. U siewców po uboju wykryto nosicielstwo *S. Enteritidis* w śledzionie (około 18,8%), jajniku (17,4%), wątrobie (15,9%), jajowodzie (0,58%), a także w jądrach (u 1 z 6 kogutów). Z kolei badania własne wykazały, że spośród niosek stada towarowego, reagujących dodatnio w odczynie aglutynacji płytowej z antygenami *Salmonella*, 43% kur było nosicielami *S. Enteritidis*. W aspekcie epidemiologicznym istotnym jest, że najczęstszym źródłem izolacji zarazka była tkanka mięśniowa (mięśnie piersiowe – 24,2%, mięśnie udowe – 9,1%). Rzadziej bakterie wyosabniano z układu rozrodczego niosek (pęcherzyki jajnikowe – 21,2%, jajowód – 15,1%, kule żółtkowe – 9,1%), a najrzadziej z układu pokarmowego (jelita – 9,1%, wątroba – 3%), śledziony – 3% i serca (6,1%) (24).

Salmoneloza może wystąpić u każdego gatunku drobiu, a najbardziej wrażliwe na zakażenie są ptaki młode. Na przebieg infekcji ma wpływ szereg różnych czynników, m.in.: dawka zakaźna, droga zakażenia, kondycja zdrowotna ptaków i ich stan fizjologiczny, a także czynniki środowiskowe i żywieniowe. Wielu badaczy uważa, że czynnikiem wybitnie sprzyjającym szerzeniu się salmonelozy wśród drobiu jest stres. Corkish

i wsp. (25) zaobserwowali, że umieszczenie niosek zakażonych *S. Enteritidis* w nowym środowisku w połączeniu ze wzrostem temperatury otoczenia spowodowało okresowy wzrost liczby siewców zarazka o około 10%. Wzmoczone siewstwo salmonel, szybsze szerzenie się zakażenia drogą horyzontalną, w tym również przez układ oddechowy stwierdzono u niosek poddanych wymuszonemu przepierzaniu (26). Podobne następstwa obserwowano po zadziałaniu na ptaki czynników immunosupresyjnych, tak o charakterze zakaźnym jak i niezakaźnym.

Na poziom skażenia drobiu rzeźnego salmonelami duży wpływ wywiera sposób postępowania w okresie bezpośrednio przed ubojem. Stwierdzono m.in., że ptaki głodzone przed ubojem wykazują tendencję do zjadania swoich odchodów, co łącznie ze stresem związanym z transportem z fermy do zakładu ubojowego zwiększa znacznie stopień zakażenia. Czynniki predysponującymi ptaki na zanieczyszczenie salmonelami w czasie uboju i po nim są niektóre właściwości anatomo-fizjologiczne, np. cienka i pofałdowana skóra. Zabiegi takie jak oparzenie i skubanie tuszek, powodując otwieranie się torebek piór, również przyczyniają się do wzrostu zakażenia (21). Wśród technologów żywności panuje opinia wskazująca na fakt częstszego powierzchniowego zanieczyszczenia tuszek kurcząt i indyków niż drobiu wodnego. Prawdopodobnie woskowanie tuszek gęsi i kaczek gorącym woskiem po uboju znacznie ogranicza zanieczyszczenie pałeczkami *Salmonella*, co często ma miejsce u kurcząt i indyków podczas płukania ich tuszek wodą (17).

Zwalczanie salmoneloz jest zadaniem trudnym i wymaga likwidacji wszystkich czynników sprzyjających rozprzestrzenianiu się tych zakażeń. Obecnie główny nacisk kładzie się na zapobieganie zakażeniu stad. Działania te obejmują ochronę mikrobiologiczną ferm, której naczelnym zadaniem jest niedopuszczanie lub minimalizowanie możliwości zakażenia stada drobiu pałeczkami *Salmonella* za pośrednictwem produktów wprowadzanych na fermę z zewnątrz. Równie ważnym jest zapobieganie przeniesieniu zarazków na nowe stado z poprzedniego, o ile było ono zakażone. Skuteczność takiego programu wymaga dokładnego oczyszczania i dezynfekcji fermy oraz kontroli tych zabiegów poprzez monitoringowe badania bakteriologiczne.

Ważnym miejscem zwalczania salmoneloz są wylęgarnie drobiu. Opracowanie i przestrzeganie podstawowych zasad higieny to kluczowe elementy w zapobieganiu szerzenia się salmonel na terenie wylęgarni i w trakcie wysyłki piskląt na fermę.

Naturalną metodą ochrony drobiu przed zakażeniem jest zjawisko kompetencyjnego wykluczania drobnoustrojów. Stosowanie tzw. preparatów zasiedlających, stanowiących fizjologiczną florę bakteryjną jelit ptaków, ma na celu zapobieganie kolonizacji przewodu pokarmowego przez mikroflorę przypadkową, w tym też salmonele (27).

Osobnym zagadnieniem jest wykorzystywanie antybiotyków w terapii salmonelozy. Stosowanie tych leków zmniejsza liczbę ptaków z objawami klinicznymi infekcji, obniża śmiertelność, jednakże nie likwiduje nosicielstwa zarazka. Niektóre antybiotyki hamują wydalanie bakterii przez nosicieli w okresie ich podawania, ale po zaprzestaniu leczenia zjawisko to natychmiast powraca, a czasem ulega nawet nasileniu. Panuje również pogląd, że antybiotyki zwiększają wrażliwość ptaków na reinfekcję salmonelami (7, 24).

W profilaktyce salmonelozy drobiu, w niektórych krajach stosowane są szczepionki żywe oraz inaktywowane, zawierające różne szczepy *Salmonella*. Na podstawie doświadczeń wykazano, że szczepionki ograniczają jedynie kolonizację, natomiast nie eliminują całko-

wicie nosicielstwa i siewstwa zarazka. Ponadto ich stosowanie może wywoływać serokonwersję i wykluczać możliwość serologicznego monitorowania stad. Innym zagrożeniem jest możliwość rewersji żywych szczepów szczepionkowych do patogennych mutantów (28).

W wielu krajach wprowadzono rządowe programy zwalczania salmoneloz drobiu. Ich głównym zadaniem jest ścisła kontrola ferm polegająca na okresowych i systematycznych badaniach mikrobiologicznych i serologicznych, a także nadzór nad czystością mikrobiologiczną produktów drobiarskich, zwłaszcza jaj. W Polsce, na mocy ustawy z dn. 24 kwietnia 1997 r. „O zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, badaniu zwierząt rzeźnych i mięsa oraz o Inspekcji Weterynaryjnej”, salmonelozy bydła, świń oraz drobiu podlegają obowiązkowi zwalczania. Zasady krajowego programu zwalczania salmoneloz drobiu są zawarte w Instrukcjach Głównego Lekarza Weterynarii z 1999 r.

Zapewnieniu produkcji bezpiecznej żywności służy system analizy zagrożeń i krytycznych punktów kontroli – HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points). Jest to system zapobiegania chorobom w ogóle, a we wszystkich programach zwalczania salmonelozy ma do odegrania rolę kluczową. Jego zastosowanie umożliwia dokładne określenie procesów produkcyjnych, których celem jest zwalczanie salmonel na każdym etapie wytwarzania żywności, począwszy od gospodarstwa rolnego aż do stołu konsumenta.

PIŚMIENNICTWO

1. Olsen SJ, MacKinnon LC, Goulding JS, i in. Surveillance for foodborne-disease outbreaks – United States, 1993–1997. CDC Surveillance Summaries 2000; 49 (SS-1): 1–7.
2. Przybylska A. Ogniska zbiorowych zatruc i zakażeń pokarmowych o etiologii bakteryjnej w Polsce w latach 1990–1996. Przegl Epidemiol 1998; 52: 269–74.
3. Przybylska A. Zatrucia i zakażenia pokarmowe w 1998 roku. Przegl Epidemiol 2000; 54: 103–14.
4. Henzler DJ, Ebel E, Sanders J, Kradel D, Mason J. *Salmonella enteritidis* in eggs from commercial chicken layer flocks implicated in human outbreaks. Avian Dis 1994; 38: 37–43.
5. Humphrey TJ, Baskerville A, Mawer S, Rowe B, Hopper S. *Salmonella enteritidis* phage type 4 from the contents of intact eggs: a study involving naturally infected hens. Epidemiol Infect 1989; 103: 415–23.
6. McIlroy SG, McCracken RM, Neill SD, O'Brien JJ. Control prevention and eradication of *Salmonella enteritidis* infection in broiler and broiler breeder flocks. Vet Rec 1989; 125: 545–8.
7. Barrow PA. The paratyphoid salmonellae. Rev Sci Tech 2000; 19: 351–75.
8. Rampling A, Anderson JR, Upson R, Peters E, Ward LR, Rowe B. *Salmonella enteritidis* phage type 4 infection of broiler chickens: a hazard to public health. Lancet 1989; 19: 436–438.
9. Ebel ED, David MJ, Mason J. Occurrence of *Salmonella enteritidis* in the U.S. commercial egg industry: report on a national spent hen survey. Avian Dis 1992; 36: 646–54.
10. Kubiński T, Kozanecka A. Występowanie pałeczek *Salmonella* w paszach i u drobiu w Polsce. Materiały Konferencji: Salmonelozy drobiu. PIWet; Puławy 1998 X 23–4; s. 76–80.
11. Rzedzicki J, Pawelec M. Dynamika występowania salmonel urzęsionych u ptaków grzebiących. Materiały VIII Sympozjum Drobiarskiego: Aspekty zootechniczno-weterynaryjne chowu drobiu grzebiącego ze szczególnym uwzględnieniem indyków. Polanica Zdrój 1997 IX 25–7; s. 97–9.
12. Kopczewski A, Strzałkowski L. Wyniki badań bakteriologicznych w kierunku pałeczek rodzaju *Salmonella* w ZHW Gdańsk w latach 1990–1996. Materiały Ogólnopolskiej Sesji Naukowej: Pałeczki *Salmonella* w paszach i salmonelozy u zwierząt. Giżycko 1997 IX 11–2.

13. Dunaj B, Hołub M. Pałeczki *Salmonella* izolowane z drobiu w Zakładzie Higieny Wet. w Białymstoku w latach 1996 – I pół. 1997 r. Materiały Ogólnopolskiej Sesji Naukowej: Pałeczki *Salmonella* w paszach i salmonelozy u zwierząt. Giżycko 1997 IX 11–2.
14. Wieliczko A, Mazurkiewicz M. Zakażenia pałeczkami *Salmonella* u drobiu na Dolnym Śląsku. *Medycyna Wet* 1999; 55: 445–50.
15. Koncicki A, Krasnodębska-Depta A, Rumińska-Rajska E. Problem zakażeń pałeczkami *Salmonella* u indyków. Materiały Konferencji: Salmonelozy drobiu. PIWet; Puławy 1998 X 23–4; s. 83–4.
16. Wieliczko A, Mazurkiewicz M. Choroby bakteryjne drobiu wodnego. Materiały Konferencji Naukowej: Choroby gęsi i kaczek. PIWet; Puławy 1995 VI 21–2; s. 16–25.
17. Tomczyk G. Salmonelozy drobiu wodnego. Materiały Konferencji: Salmonelozy drobiu. PIWet; Puławy 1998 X 23–4; s. 85–7.
18. Poppe C, Duncan CL, Mazzocco A. *Salmonella* contamination of hatching and table eggs: a comparison. *Can J Vet Res* 1998; 62: 191–8.
19. Błaszczak B, Binek M. Nosicielstwo w stadzie oraz obecność *Salmonella enteritidis* w jajach i zarodkach kurzych. *Medycyna Wet.* 1999; 55: 39–41.
20. Bichler LA, Nagaraja KV, Halvorson DA. *Salmonella enteritidis* in eggs, cloacal swab, specimens, and internal organs of experimentally infected White Leghorn chickens. *AJVR* 1996; 57: 489–95.
21. Rzedzicki J, Pawelec M. Ptaki jako potencjalne źródło zakażenia ludzi salmonelami. *Medycyna Wet* 1989; 54: 19–21.
22. Kopczeński A., Strzałkowski L. Występowanie pałeczek *Salmonella* w mieszankach paszowych, śrutach importowanych, koncentratkach białkowo-tłuszczowych oraz w mączkach mięsno-kostnych i rybnych badanych w ZHW Gdańsk w latach 1991–1996. Materiały Ogólnopolskiej Sesji Naukowej: Pałeczki *Salmonella* w paszach i salmonelozy u zwierząt. Giżycko 1997 IX 11–2.
23. Kostrzewa T, Hołub M, Głowacka A. Występowanie pałeczek z rodzaju *Salmonella* w paszach i komponentach paszowych zbadanych w ZHW Białystok w 1996 i 1997 (do 1.08.97 r.) Materiały Ogólnopolskiej Sesji Naukowej: Pałeczki *Salmonella* w paszach i salmonelozy u zwierząt. Giżycko 1997 IX 11–2.
24. Rzedzicki J, Kołodziejczyk A, Tokarzowski S i in. Wpływ antybiotykoterapii na wyniki badań bakteriologicznych i serologicznych kur zakażonych pałeczkami *Salmonella*. *Annales UMCS*, s. DD 2001; 56 (w druku).
25. Corkish JD, Davies RH, Wray C i in. Observations on a broiler breeder flock naturally infected with *Salmonella enteritidis* phage type 4. *Vet Rec* 1994; 134: 591–4.
26. Holt PS. Horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* in molted and unmolted laying chickens. *Avian Dis* 1995; 39: 239–9.
27. Szeleszczuk P. Kompetencyjne wykluczanie w praktyce drobiarskiej. Materiały VIII Sympozjum Drobiarskiego: Aspekty zootechniczno-weterynaryjne chowu drobiu grzebiącego ze szczególnym uwzględnieniem indyków. Polanica Zdrój 1997 IX 25–7; s. 102–9.
28. Proux K, Humbert F. Wybrane zagadnienia dotyczące szczepienia drobiu przeciw salmonelom. Materiały Konferencji: Salmonelozy drobiu. PIWet; Puławy 1998 X 23–4; s. 35–40.

Adres autora:

Jerzy Rzedzicki

Katedra Profilaktyki Ogólnej i Chorób Ptaków

Wydział Medycyny Weterynaryjnej Akademii Rolniczej

20–033 Lublin

ul. Akademicka 12

tel. (081) 445–68–31

e-mail: ptaki@agros.ar.lublin.pl

1. W sprawie...
 2. W sprawie...
 3. W sprawie...
 4. W sprawie...
 5. W sprawie...
 6. W sprawie...
 7. W sprawie...
 8. W sprawie...
 9. W sprawie...
 10. W sprawie...
 11. W sprawie...
 12. W sprawie...
 13. W sprawie...
 14. W sprawie...
 15. W sprawie...
 16. W sprawie...
 17. W sprawie...
 18. W sprawie...
 19. W sprawie...
 20. W sprawie...
 21. W sprawie...
 22. W sprawie...
 23. W sprawie...
 24. W sprawie...
 25. W sprawie...
 26. W sprawie...
 27. W sprawie...
 28. W sprawie...
 29. W sprawie...
 30. W sprawie...
 31. W sprawie...
 32. W sprawie...
 33. W sprawie...
 34. W sprawie...
 35. W sprawie...
 36. W sprawie...
 37. W sprawie...
 38. W sprawie...
 39. W sprawie...
 40. W sprawie...
 41. W sprawie...
 42. W sprawie...
 43. W sprawie...
 44. W sprawie...
 45. W sprawie...
 46. W sprawie...
 47. W sprawie...
 48. W sprawie...
 49. W sprawie...
 50. W sprawie...
 51. W sprawie...
 52. W sprawie...
 53. W sprawie...
 54. W sprawie...
 55. W sprawie...
 56. W sprawie...
 57. W sprawie...
 58. W sprawie...
 59. W sprawie...
 60. W sprawie...
 61. W sprawie...
 62. W sprawie...
 63. W sprawie...
 64. W sprawie...
 65. W sprawie...
 66. W sprawie...
 67. W sprawie...
 68. W sprawie...
 69. W sprawie...
 70. W sprawie...
 71. W sprawie...
 72. W sprawie...
 73. W sprawie...
 74. W sprawie...
 75. W sprawie...
 76. W sprawie...
 77. W sprawie...
 78. W sprawie...
 79. W sprawie...
 80. W sprawie...
 81. W sprawie...
 82. W sprawie...
 83. W sprawie...
 84. W sprawie...
 85. W sprawie...
 86. W sprawie...
 87. W sprawie...
 88. W sprawie...
 89. W sprawie...
 90. W sprawie...
 91. W sprawie...
 92. W sprawie...
 93. W sprawie...
 94. W sprawie...
 95. W sprawie...
 96. W sprawie...
 97. W sprawie...
 98. W sprawie...
 99. W sprawie...
 100. W sprawie...

RENATA GŁOŚNICKA

ROLA I ZADANIA KRAJOWEGO OŚRODKA SALMONELLA

Krajowy Ośrodek Salmonella
Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdyni

Salmonelozy przedstawiają, zarówno dla służby zdrowia jak i dla służby weterynaryjnej, dziedzinę obszerną i skomplikowaną. Jej rozmiary i różnorodność mają swoją przyczynę w dużej częstotliwości i masowości zakażeń oraz ogromnym bogactwie serotypów wywołujących zakażenia i zachorowania u ludzi i zwierząt. Zachorowania spowodowane przez pałeczki *Salmonella* mogą przebiegać pod postacią różnych form klinicznych zwłaszcza w tych przypadkach gdy stanowią powikłanie innego schorzenia. Epidemiologia i epizootologia salmoneloz opierają się na zdobyczach serologii i fizjologii bakteryjnej, dzięki którym możliwe jest szczegółowe różnicowanie rodzaju na powiększający się stale szereg serotypów. Znamy ich obecnie ponad 2 400, a teoria i praktyka każą spodziewać się wzrostu tej liczby. Nowe serotypy (serowary) powstają w wyniku zmian kombinacji antygenowych, które mogą być spowodowane różnymi czynnikami. Niektóre serotypy różnicują się ponadto na typy bakteriofagowe.

Konieczność znajomości i stosowania w praktyce metod różnicowania bakterii *Salmonella* na serotypy o bakteriofagotypy wynika z potrzeb identyfikowania źródeł i dróg szerzenia się infekcji, w każdym przypadku zakażenia sporadycznego lub ogniska zakażenia. Wyczerpująca działalność profilaktyczna powinna sięgać do kontroli rezerwuaru, a więc naturalnego gospodarza zarazka. W tym miejscu łączą się zadania epidemiologów i epizootologów, a także służb zdrowia i służb weterynarii. Chodzi tu mianowicie o serotypy, które mają swój rezerwuar poza człowiekiem, a więc wszystkie oprócz *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *B* i *C*.

Naturalnymi gospodarzami najczęściej występujących serotypów *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium* są gryzonia, rezerwuarem pałeczek *S. Dublin* jest bydło, a bakterii *S. Choleraesuis* – trzoda chlewna. Obserwacje ostatnich lat wykazują, że niemalże udział w utrzymywaniu ciągłości tych bakterii ma człowiek.

W ostatnich dziesiątkach lat obserwuje się ilościowy wzrost salmoneloz u ludzi i zwierząt spowodowanych przez rzadziej występujące serotypy lub zupełnie nieznane, importowane z krajów egzotycznych.

Zarówno z zagadnieniem rezerwuaru, źródła jak i mechanizmu szerzenia się zakażenia wiąże się znajomość nosicielstwa lub krótkotrwałego wydalania poszczególnych typów serologicznych przez człowieka i zwierzęta. Bez tej znajomości trudno jest wnioskować o roli źródeł ludzkich i żywych zwierząt w szerzeniu zakażeń i przeniesieniu ich od człowieka do człowieka, od człowieka do zwierząt i na odwrót oraz krążeniu tych zarazków w środowisku.

Do niedawna uważaliśmy, że drogi i mechanizmy rozprzestrzeniania się salmoneloz znajdują się pod należytą kontrolą. Oczywiście, przepisy higieniczne spełniają bardzo ważną rolę i zapewniają racjonalne w tym względzie postępowanie zarówno w przetwórstwie, przechowalnictwie i w obrocie żywnością. Jednakże żywiołowy rozwój przemysłowej produkcji żywności oraz pasz treściwych i prawie niekontrolowany handel tymi towarami przyczyniają się do ogromnego rozpowszechnienia salmoneloz wśród zwierząt hodowlanych, co z kolei obok strat ekonomicznych stanowi zagrożenie epidemiologiczne.

Ten rejestr problemów nie byłby pełny gdybyśmy nie odnotowali bardzo ważnego poglądu uzupełniającego dotychczasowe pojęcia o mechanizmie rozprzestrzeniania się zakażeń *Salmonella*. Chodzi tu o możliwość zakażenia na drodze kropelkowej. O istnieniu takiego mechanizmu przekonują nas nagromadzone obserwacje podczas epidemii w szpitalach, zwłaszcza na oddziałach dziecięcych.

Izolacja *Salmonella* od ludzi i zwierząt, z żywności i paszy, a także z otoczenia stają się obecnie tak częste, że mogą stanowić swego rodzaju wskaźnik stanu sanitarnego.

Krajowy Ośrodek Salmonella (KOS) działa od 1946 roku, a został powołany w Instytucie Medycyny Morskiej i Tropikalnej przez Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej w 1957 roku i zarejestrowany przez WHO. Założycielem Ośrodka był prof. Z. Buczowski, który od 1942 roku zajmował się bakteriologią serologią i epidemiologią pałeczek rodzaju *Salmonella*. Był inicjatorem wprowadzenia badań serologicznych pałeczek *Salmonella* w stacjach sanitarno-epidemiologicznych. Dążył do upowszechnienia typowania bakteriofagowego wybranych serotypów. Szczególnie dotyczy to szczepów *S. Typhi*, ponieważ po epidemii duru brzuszego w latach 1945–48, w Polsce pozostało tysiące nosicieli tych bakterii.

Celem działania KOS jest prowadzenie badań referencyjnych, obejmujących diagnostykę serologiczną i biochemiczną, wykrywanie i identyfikację pałeczek *Salmonella*, typowanie bakteriofagowe oraz udział w badaniach epidemiologicznych. Ponadto Ośrodek prowadzi badania naukowe nad budową i właściwościami zewnętrznych struktur pałeczek *Salmonella* oraz molekularnych podstaw lekooporności i wirulencji tych bakterii. Ważną dziedziną zainteresowań jest także profilaktyka zakażeń tymi bakteriami. Według norm prawa europejskiego bakterie *Salmonella Typhi* należą do 3 grupy szkodliwych czynników biologicznych, a bakterie *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* i inne serotypy pałeczek *Salmonella* należą do 2 grupy szkodliwych czynników biologicznych.

Badania serologiczne obejmują szczepy *Salmonella* trudne do identyfikacji lub nowe serowary izolowane na terenie całego kraju i przysyłane przez wojewódzkie i terenowe stacje sanitarno – epidemiologiczne, zakłady weterynaryjne i inne laboratoria bakteriologiczne. Badania nowych typów serologicznych *Salmonella* występujących w kraju po raz pierwszy są wykonywane szczególnie starannie, a wyniki naszych badań są potwierdzane przez Międzynarodowy Referencyjny Ośrodek WHO, który mieści się w Instytucie Pasteura w Paryżu.

Import skażonej żywności, półproduktów, przypraw, pasz itp. powoduje, że w kraju pojawiają się nowe serotypy, lub szczepy trudne do identyfikacji, które powinny być przekazywane do KOS. Z przeprowadzonych badań wynika, że w ciągu ostatnich lat sprowadza się do Polski duże ilości drobiu do hodowli (kurcząt, indyków, gęsi i kaczek) z Kanady, Holandii, Anglii, Czech i Niemiec. U tych ptaków stwierdzano zakażenia

pałeczkami *S. Enteritidis*, *S. Hadar*, *S. Infantis*, *S. Virchow* i *S. Mbandaka*. Wszystkie te serotypy powodują zakażenia i zatrucia pokarmowe u ludzi. Bakterie *Salmonella* wyizolowano się z takich produktów jak, herbata, pieprz czarny (import z Brazylii), papryka, bazylika świeża i suszona (import z Austrii), grzyby suszone, mleko w proszku, odżywka „Bebiko”, jaja całe i proszek z jaj skażone głównie bakteriami *S. Infantis* (import z Holandii), przyprawa do mięsa, z której izolowano pałeczki *S. Tennessee* (import z Niemiec). Zakażone w znacznym stopniu są także importowane komponenty paszowe i pasze takie jak, mączka mięsno-kostna, mieszanki paszowe czy śruta sojowa. Izolowano z nich *Mbandaka*, *Infantis*, *Havana*, *Muenster* i inne serowary. Liczne typy serologiczne bakterii *Salmonella*, z uwagi na ich budowę antygenową, mogą sprawiać trudności diagnostyczne. W latach 1995–1999 określono 27 nowych typów serologicznych, które dotąd nie występowały. W Polsce rozpoznano dotychczas 168 serotypów. Problemy ekonomiczne służby zdrowia sprawiają, że szczepy takie rzadko trafiają do Ośrodka. Na skutek tego w zestawieniach epidemiologicznych stacji sanitarno-epidemiologicznych znajdują się liczne „nowe” serotypy, które nie zostały potwierdzone przez Ośrodek.

Badania biochemiczne obejmują wszystkie przekazane do Ośrodka szczepy *Salmonella*, a szczególnie te które posiadają nietypowe cechy biochemiczne. Odmierna zdolność fermentacji laktozy jest przyczyną wadliwych rozpoznań, z uwagi na powszechne zastosowanie tego substratu w podłożach różnicujących. Znane są serotypy takie jak: *Typhi*, *Typhimurium*, *Oranienburg*, *Anatum* i inne, które fermentowały laktozę, lub sacharozę, czy nawet obydwie cukry. Epidemia wywołana w latach 80-tych, przez pałeczki *S. Agona* fermentujące laktozę zmobilizowała nas do przeprowadzenia badań, które wykazały, że cecha ta jest z łatwością przekazywana przez szczep *E. coli* na drodze koniugacji do bakterii *Salmonella*.

Typowanie bakteriofagowe jest doskonałą metodą pomocniczą w prowadzeniu dochodzeń epidemiologicznych. Badania obejmują szczepy *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *S. Typhimurium* i *S. Enteritidis*.

KOS prowadzi typowanie bakteriofagowe szczepów *S. Typhi* z zestawem 105 fagów, które otrzymujemy z Collaborating Centre for Phage Typing and Resistance of Enterobacteria z Londynu – Colindale. Szczepy *S. Paratyphi A* są typowane zestawem 6 fagów z Colindale. Do typowania szczepów *S. Paratyphi B* stosujemy, opracowany przez Lalko zestaw 20 fagów, które są kombinacją fagów *Felixa* i *Scholtensa*. *S. Typhimurium* typujemy 35 fagami, które otrzymujemy z Colindale. Szczepy *S. Enteritidis* są typowane zestawem 8 fagów opracowanych w Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie oraz z zestawem 10 fagów uzyskanych z Colindale. Ośrodek nasz jest jedyną placówką, która wykonuje typowanie bakteriofagowe wymienionych serotypów *Salmonella*. W latach 1996–1999, w KOS przeprowadzono typowanie bakteriofagowe ponad 400 szczepów *Salmonella*. Z pośród 21 szczepów *S. Paratyphi B*, pojedyncze należały to typów fagowych 1, 3a I i BAOR, pozostałe nie typowały się. Szczepy *S. Typhi* (37) należały najczęściej do typu E_1b oraz pojedyncze do typów C_1 , D_1 , F_8 i 39, a także były zdegradowane. Liczne kontakty zagraniczne powodują, że pojawiły się w Polsce szczepy *S. Typhi* i *S. Paratyphi A* izolowane od osób chorych przybywających z zagranicy lub obcokrajowców, które przedstawiają nowe typy bakteriofagowe. Szczególnie zwracają uwagę szczep *S. Paratyphi A*, ponieważ zakażenia tymi pałeczkami

nie występowały w Polsce od lat. Większe ilości pałeczek *S. Paratyphi A* izolowano w Polsce w 1977 i 1978 roku. Z pośród 41 badanych szczepów *S. Typhimurium* żaden nie przedstawiał rekacji typowych, to jest zgodnych ze schematem. Z pośród 229 szczepów *S. Enteritidis* rozpoznano typ 1 (68 szczepów), typ 3 (32 szczepy), typ 4 (2 szczepy), typ 5 (1 szczep), typ 6 (10 szczepów), typ 7 (83 szczepy) pozostałe typy fagowe i typy zdegradowane (33 szczepy). Tylko 6 szczepów nie typowało się fagami Lalko i wsp. Stosowany w Polsce od ponad 20 lat schemat typowania bakteriofagowego *Enteritidis* pozwala na określenie 20 typów fagowych i odznacza się powtarzalnością wyników typowania oraz wysokim stopniem aktywności. Pozwala to na określanie typów fagowych ponad 90% badanych szczepów. Zestawienia wyników typowania pałeczek *Enteritidis* potwierdziły występowanie w Polsce, z największą częstotliwością, typów 1 i 7. Porównanie wyników typowania *Enteritidis* z zastosowaniem fagów Polskich (Lalko i wsp) i uzyskanych z Colindale (Ward i wsp.) wykazało mniejszą przydatność tych ostatnich, ponieważ znaczna liczba szczepów *Enteritidis* izolowanych w Polsce, nie typuje się zestawem fagów Colindale. Z punktu widzenia epidemiologii, ważnym faktem jest obecność w Polsce pojedynczych szczepów typu 4. Ten typ fagowy jest bowiem dominujący w Europie i sugerowano, że epidemia *Enteritidis* w Polsce, która rozpoczęła się w 1982 stała się przyczyną rozprzestrzenienia tych bakterii w Europie.

Wybrane szczepy *S. Enteritidis* poddawane są badaniom lekooporności oraz analizie profilu plazmidowego.

Badanie budowy i struktur ścian komórkowych bakterii stanowiło stały przedmiot zainteresowań oraz badań prowadzonych w KOS. Dotyczyły one zarówno antygenów otoczkowych bakterii *Salmonella Typhi* jak i bakterii *Yersinia Pestis*, a także lipopolisacharydów i antygenów rzęskowych pałeczek *Salmonella*. Prace nad strukturą i lokalizacją antygeny Vi wykazały, że antygen ten jest zlokalizowany na powierzchni komórki i może tworzyć otoczki o znacznych rozmiarach, ale może także być uwalniany do otoczenia. W badaniach farmakodynamicznych wykazano, że wielocukier izolowany z bakterii *S. Typhi* miał wielokrotnie słabsze działanie toksyczne aniżeli LPS. Wykonane testy nie wykazały szkodliwego działania na układ krwionośny, oddechowy i pokarmowy. Antygen Vi posiada ogromne walory w zastosowaniu do diagnostyki immunologicznej nosicieli duru brzuszego, jest także stosowany jako szczepionka przeciw durowi brzuszemu.

Od 1986 roku prowadzimy badania nad otrzymywaniem przeciwciał monoklonalnych i surowic króliczych do identyfikacji epitopów bakterii *Salmonella* oraz dla celów diagnostycznych. Uzyskaliśmy liczne hybrydy produkujące przeciwciała monoklonalne dla antygeny Vi, antygenów lipopolisacharydowych bakterii *Salmonella* z grupy DO oraz antygenów rzęskowych *S. Enteritidis*. Podjęcie współpracy z zespołem Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego zaowocowało w ważnych pracach nad budową antygenów bakterii *Salmonella*, a mianowicie określono dodatkową frakcję antygenową LPS szczepu *Salmonella Haarlem*. Antygeny somatyczne szczepów grupy D2 (9,46), zgodnie ze schematem Kauffmanna-White'a, posiadały dwa epitopy antygenowe. Wyizolowano antygen lipopolisacharydowy - LPS i frakcję O-swoistych wielocukrów - OPS. Określono strukturę cukrów (ramnozy, mannozy, galaktozy i tywelozy) OPS w powtarzalnych jednostkach *S. Haarlem* ($\rightarrow 3$)- α -D-Galp(1 \rightarrow 6)-[α -Tyvp-(1 \rightarrow 3)]- β -D-Manp-(1 \rightarrow 4)- α -L-Rhap). Badania serologiczne ze zastosowaniem surowic króliczych

i przeciwciał monoklonalnych wykazały, że w szczepie *S. Haarlem* występuje dodatkowa frakcja antygenowa, identyczna z LPS szczepów grupy E i tak, antygen somatyczny szczepu *S. Haarlem* został określony jako 3,9,46.

Badania nad budową antygeny rzęskowego bakterii *Salmonella Enteritidis*, opierają się na testach serologicznych z zastosowaniem surowic króliczych i przeciwciał monoklonalnych własnej produkcji. W próbach wykorzystano izolowany i oczyszczony antygen rzęskowy oraz syntetyczne peptydy dla fragmentów regionów super zmiennych flagelliny.

Salmonelozy są traktowane jako zakażenia odzwierzęce, co znajduje potwierdzenie w opisywanych zakażeniach na fermach hodowlanych (drobiowych i innych). Najczęstszą przyczyną zatruc pokarmowych u ludzi są produkty spożywcze zawierające jajka. Dlatego też pożytecznym działaniem profilaktycznym byłoby zwalczanie salmoneloz na fermach hodowlanych. Zakażenia zwierząt są spowodowane przez kilka serotypów *Salmonella*, a między innymi *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. choleraesuis* i inne. Jak podają liczne źródła, zastosowanie szczepionki zawierającej jeden serotyp nie wywołuje odporności na pałeczki *Salmonella* o innych serotypach, trudno jest też wywołać odporność na salmonelozy w młodych organizmach. Opisane powyżej powody skłoniły nas do opracowania szczepionki, która składa się z kilku najczęściej występujących serotypów bakterii *Salmonella* i zawiera przeciwciała królicze zaabsorbowane na wybranych determinantach antygenów somatycznych. Dodatkowym walorem tej szczepionki jest to, że jest ona przygotowana do stosowania *per os*. Przeprowadzone badania laboratoryjne wykazały wysoki stopień aktywności immunologicznej szczepionki w badaniach laboratoryjnych. Szczepienia kurcząt na kilku fermach wykazały, że szczepionka posiada zdolność biernego i aktywnego zwalczania zakażenia oraz zabezpiecza przed zakażeniami pałeczkami *Salmonella*. Najskuteczniejsze działanie uzyskano przy zastosowaniu preparatu w pierwszych dniach życia piskląt. Na tych fermach zaobserwowano znaczne zmniejszenie śmiertelności drobiu, które wyniosło od 1,8 do 3,5%. Normy techniczne przewidują ubytki do 8,5%, a na fermach zakażonych stwierdzano nawet do 16% upadków. Szczepionka o nazwie „IMMUNOVAC” została opatentowana w 1996 roku i jest obecnie w procesie rejestracji.

KOS prowadzi muzeum szczepów, w którym zgromadzono około 1 900 egzemplarzy bakterii *Salmonella*, które pochodzą ze zbiorów Międzynarodowych Ośrodków Referencyjnych, a w największej liczbie stanowią zbiory szczepów wyizolowanych w Polsce z zakażeń, zatruc pokarmowych u ludzi i z innych źródeł. Ponadto posiadamy 250 preparatów bakteriofagowych. Nasze muzeum należy do Polskiej Kolekcji Drobnoustrojów. Jesteśmy członkami ECCO (European Culture Collection Organization) oraz zostaliśmy przyjęci jako członkowie afiliowani przy Światowej Organizacji Kolekcji Drobnoustrojów – WFCC. Szczepy wzorcowe z naszego muzeum są udostępniane do badań naukowych, a także jako standardy, stacjom sanitarno-epidemiologicznym i innym zakładom. Wytwarzamy ponad 120 gatunków surowic diagnostycznych dla potrzeb KOS. Praca ta jest związana z koniecznością szczegółowej identyfikacji bakterii *Salmonella*.

Prowadzimy liczne konsultacje, szkolenia i udzielamy informacji z zakresu diagnostyki, typowania bakteriofagowego i dochodzeń epidemiologicznych dotyczących bakterii *Salmonella*.

KOS prowadzi stałą współpracę z WHO w ramach programu „Salmonella Surveillance” oraz z Ośrodkami Referencyjnymi WHO w Londynie i Paryżu.

Krajowe Ośrodki Salmonella działają we wszystkich krajach Unii Europejskiej i spełniają ważną rolę z uwagi na problemy jakie są związane z dużą częstością występowania zakażeń i zatruc pokarmowych spowodowanych bakteriami *Salmonella*.

Zakażenia i zatrucia pokarmowe bakteriami Salmonella były monitorowane przez KOS od 1956 do 1978 roku. W Polsce w latach 1984–1994 potwierdzono bakteriologicznie zakażenie około 700 000 osób. Obecnie liczby zakażeń tymi bakteriami zmniejszają się, ale rocznie stwierdzamy ponad 30 000 przypadków infekcji *Salmonella*. Największe liczby zakażeń są spowodowane przez *Salmonella* Enteritidis. Wysokie liczby zakażeń pałeczkami *Salmonella* są stwierdzane na całym świecie. Zdaniem autorytetów z tej dziedziny mamy do czynienia z pandemią salmoneloz.

Przedstawiona w dużym skrócie aktywność KOS wykazuje zaangażowanie w działalność diagnostyczną, epidemiologiczną i profilaktyczną, którą staramy się objąć wszystkie problemy związane z zakażeniami i zatruciami pokarmowymi powodowanymi bakteriami *Salmonella* w Polsce. Działalność tą prowadzimy w pełnej współpracy z ośrodkami krajowymi oraz z międzynarodowymi ośrodkami referencyjnymi.

Adres autorki:

Renata Głońska

Krajowy Ośrodek Salmonella

Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej w Gdyni

ul. Powstania Styczniowego 9 b, 81–519 Gdynia,

Tel. (+48 58) 699 85 49, Fax: (+48 58) 622 33 54

E-mail: renglo@immt.gdynia.pl

JAN URADZIŃSKI

ESCHERICHIA COLI O157 U BYDŁA NA TERENIE POLSKI

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Nazwa *Escherichia coli* pochodzi od dr Theodora Eschericha, który odkrył i opisał tę bakterię w 1885 roku. W ciągu minionego ponad 100-letniego okresu o *E. coli* napisano prawdopodobnie znacznie więcej niż o jakimkolwiek innym drobnoustroju.

Obecnie powszechnie wiadomo, że *E. coli* jest szeroko rozpowszechniona w środowisku. Jej głównym miejscem bytowania jest przewód pokarmowy ludzi i zwierząt (14, 15, 16, 19, 29). Pełni tam rolę symbionta, ponieważ syntetyzuje niektóre, ważne dla życia, związki egzogenne. Jej wyginiecie np. w wyniku przedawkowania antybiotyków powoduje komplikacje, bowiem każdy organizm ma swojego indywidualnego – ściśle określonego symbionta.

Powszechność występowania *E. coli* w przewodzie pokarmowym człowieka i zwierząt stałociepnych wykorzystano do oceny zanieczyszczenia środowiska kałem. Obecność tych bakterii w wodzie, żywności, na rękach pracowników, etc. pozwala na określenie stanu sanitarnego i dlatego uznano je za wskaźnik sanitarny.

Kilka lat po odkryciu *E. coli* przez T. Eschericha lekarze zwrócili uwagę na właściwości chorobotwórcze tych bakterii i możliwość wywoływania stanów chorobowych u ludzi (19). W następnych dziesięcioleciach wykazano, że infekcje zarówno u ludzi jak i u zwierząt wywołują tylko niektóre szczepy, o określonej budowie antygenowej (1, 3, 11, 14, 17, 19, 21). Początkowo sądzono, że zachorowania na tle *E. coli* występują tylko u osobników młodych i że dotyczy to szczególnie wrażliwych noworodków. Obserwacje te dotyczyły również cieląt i prosiąt, u których stwierdzano także stany biegunkowe. W ostatnich dwóch dekadach zebrano jednak wiele dowodów świadczących o występowaniu określonych stanów chorobowych również u osób dorosłych (12, 15, 20).

Schorzenia u ludzi i zwierząt wywoływane są przez stosunkowo małą grupą szczepów patogennych, które stanowią ostry kontrast w zderzeniu z licznymi, powszechnie występującymi typami niechorobotwórczymi.

Szczepy chorobotwórcze *E. coli* zaliczane są obecnie do sześciu następujących kategorii:

- Enteropatogenne *E. coli* (EPEC) – Enteropathogenic *E. coli*
- Enterotoksyczne *E. coli* (ETEC) – Enterotoxigenic *E. coli*
- Enteroinwazyjne *E. coli* (EIEC) – Enteroinvasive *E. coli*
- Enterokrwtoczne *E. coli* (EHEC) – Enterohemorrhagic *E. coli*
- Enteroagregacyjne *E. coli* (EAEC) – Enteroaggregative *E. coli*
- Adherencyjne *E. coli* (DAEC) – Diffusely Adherent *E. coli*.

Enteropatogenne szczepy *E. coli* (EPEC)

Szczepy należące do tej kategorii wywołują biegunkę u ludzi w krajach trzeciego świata. Schorzenie występuje głównie u dzieci w wieku poniżej 2 lat. U osób dorosłych zakażenie następowało po podaniu ochotnikom ludzkim 10^8 – 10^{10} komórek bakteryjnych. Brak jest natomiast danych na temat minimalnej dawki infekcyjnej przy zakażeniach naturalnych (15).

Do zakażeń dochodzi najczęściej po spożyciu żywności, wody, z brudnych rąk, itp. W typowych przypadkach u dzieci występuje wodnista biegunka, natomiast rzadko stwierdza się gorączkę i wymioty. Choroba zwykle ustępuje w ciągu 14 dni. U dzieci starszych i ludzi dorosłych objawy chorobowe zwykle nie występują, pomimo wydalania z kałem znacznej liczby bakterii. Świadczy to o powstawaniu sprawnej odporności immunologicznej.

Enterotoksyczne szczepy *E. coli* (ETEC)

Bakterie należące do tej kategorii po raz pierwszy rozpoznane zostały jako przyczyna biegunek u nowo narodzonych prosiąt. Jako przyczynę śmierci uznano dwie enterotoksyny produkowane przez te bakterie. W następnym okresie ustalono, że serotypy te wywołują również biegunki u dzieci oraz osób dorosłych.

Obecnie wiadomo, że szczepy ETEC charakteryzują się zdolnością produkowania jednej lub więcej enterotoksyn, które mogą być ciepłochwiejne (LT) lub ciepłostale (ST). Przeprowadzone badania udowodniły jednak, że wytwarzanie enterotoksyn LT i ST nie jest wyłączną cechą chorobotwórczości dla ludzi, bowiem do wystąpienia biegunki niezbędne są czynniki adhezyjne warunkujące zasiedlenie nabłonka jelitowego (9, 20, 26).

Zakażenie przebiega pod postacią łagodnego stanu biegunkowego, któremu towarzyszą nudności oraz umiarkowane bóle brzucha. Zachorowania występują wśród dzieci na terenie państw rozwijających się oraz u przebywających tam turystów. Objawy chorobowe trwają zwykle 1–5 dni. Czasem jednak biegunka może być intensywna i w wysokim odsetku mogą wystąpić zgony.

Enteroinwazyjne szczepy *E. coli* (EIEC)

Nazwa tej kategorii pochodzi od zdolności bakterii do inwazji komórek nabłonka jelitowego. Szczepy te biochemicznie, genetycznie i właściwościami chorobotwórczymi podobne są do *Shigella species*. Również objawy chorobowe wykazują znaczne podobieństwo do infekcji wywołanych przez *Shigella*. Enteroinwazyjne szczepy *E. coli* produkują jedną lub więcej enterotoksyn będących przyczyną wodnistych biegunek. W typowym przebiegu poza biegunką chorzy skarżą się na bóle głowy, mięśni i brzucha, mają dreszcze, gorączkę i wymioty. Pomimo szerokiego zestawu objawów chorobowych, zwykle w ciągu dwóch dni chorzy wracają do zdrowia. Uważa się, że zakażenia następują drogą bezpośrednią z człowieka na człowieka. Należący do tej kategorii serotyp O 124 rozpoznany został w Polsce jako czynnik etiologiczny masowego zachorowania ludzi po spożyciu sera twarogowego. Również inne serotypy EIEC wywołują sporadyczne zachorowania u dzieci.

Enterokrwotoczne szczepy *E. coli* (EHEC)

Grupę tę utworzono po zidentyfikowaniu w 1982 roku na terenie Stanów Zjednoczonych serotypu O157 : H7, który doprowadził do masowych zakażeń pokarmowych u ludzi po spożyciu niedopieczonych hamburgerów (4, 13, 24). Próby zakwalifikowania tego serotypu do istniejących wcześniej kategorii nie powiodły się, ponieważ nie wykazywał cech charakterystycznych dla tradycyjnych enteropatogennych typów: nie produkował ciepłostalnych i ciepłochwiejnych enterotoksyn i nie był inwazyjny. Wytwarzał natomiast verocytotoksynę (VT) nazywaną również toksyną Shiga (Stx). Obecnie coraz częściej używa się tej ostatniej nazwy, ponieważ Stx wytwarzana przez *E. coli* jest bardzo podobna do toksyny Shiga wytwarzanej przez *Shigella dysenteriae* typ 1. Wśród Shiga toksyn wyróżnia się Stx 1 i Stx 2. Pojedynczy szczep EHEC może wytwarzać albo toksynę Stx 1, albo Stx 2, bądź obie. Stwierdzono, że Stx1 jest jednorodna, natomiast w obrębie Stx 2 istnieją odrębne warianty: Stx 2c, Stx 2v, Stx 2 vhb, Stx 2e, itp. (20, 21). Oprócz wymienionych toksyn, niemal wszystkie szczepy *E. coli* O157 : H7 oraz O157 : H⁻ produkujące Stx wytwarzają także enterohemolizynę (Ehx).

Rezerwuarem EHEC są: bydło, owce, kozy, świnie, drób, mowy itp. (6, 7, 8, 22, 23, 24, 25). W warunkach domowych psy i koty są również siedliskiem tych bakterii. Znane są także zakażenia drogą kontaktową, z człowieka na człowieka. Z licznych badań wynika jednak, że głównym rezerwuarem EHEC jest bydło, szczególnie osobniki młode. Należy także podkreślić, że częstotliwość izolacji serotypu O157 : H7 jest zdecydowanie niższa niż znanych innych serotypów. Wśród tych ostatnich za patogenne dla ludzi uważa się: *E. coli* O26 : H11, O103 : H2, O111 : H⁻, O113 : H21, i inne. Wymienione serotypy były przyczyną zachorowań u ludzi w Japonii, Niemczech, Włoszech, Republice Czeskiej, Austrii i USA (1, 2, 9, 24, 26).

Escherichia coli O157 : H7 jest czynnikiem etiologicznym trzech jednostek chorobowych o poważnym przebiegu:

Krwotoczne zapalenie jelita grubego – HC (Haemorrhagic colitis)

Zespołu hemolityczno – mocznicowego – HUS (Haemolytic uremic syndrome)

Małopłytkowej plamicy zakrzepowej – TTP (Thrombotic thrombocytopenic purpura).

Krwotoczne zapalenie jelita grubego (HC)

Okres inkubacji wynosi zwykle 1–7 dni, po którym pojawiają się bóle brzucha przechodzące w ciągu 24 godzin w wodnistą biegunkę która następnie staje się szczególnie krwotoczna. Choroba ustępuje zwykle po 2–9 dniach. Niekiedy jednak występują komplikacje w postaci krwawienia z żołądka lub niedokrwienia mózgu. Może także rozwinąć się zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS) lub małopłytkowa plamica zakrzepowa (TTP).

Zespół hemolityczno-mocznicowy (HUS)

Powstaje zwykle jako powikłanie krwotoczego zapalenia okrężnicy (HC) i dotyczy najczęściej dzieci i osób starszych. Zmiany chorobowe występują w naczyniach krwionośnych nerek, w których pod wpływem produkowanych przez EHEC toksyn powstają mikrozakrzepy prowadzące do ostrej niewydolności nerek. Dochodzi również do niewydolności serca, omdleń i w 3–10% przypadkach następuje śmierć.

Małopłytkowa plamica zakrzepowa (TTP)

Powstaje w następstwie działania toksyn Shiga produkowanych przez *E. coli* O157 i zwykle jest powikłaniem trwającego zespołu hemolityczno-mocznicowego (HUS). Do objawów charakterystycznych dla tego ostatniego dołączają się zmiany zakrzepowe w jelicie grubym, sercu, trzustce, nadnerczach i mózgu. W mózgu zakrzepy tworzą się u znacznego odsetka chorych (30%) i w krótkim czasie, zwłaszcza u osób starszych, prowadzą do śmierci.

Enteroagregacyjne szczepy *E. coli* (EAEC)

Stanowią rozpoznaną ostatnio grupę, w skład której wchodzi chorobotwórcze szczepy *E. coli* różniące się od opisanych poprzednio m.in. zdolnością łączenia się licznych komórek bakteryjnych między sobą i ich adhezją do komórek nabłonkowych jelita.

Bakterie należące do tej grupy wywołują biegunki u dzieci w krajach rozwijających się (Brazylia, Meksyk, Bangladesz i Iran). Również w Polsce prof. H. Stypułkowska – Misiurewicz wraz ze współpracownikami z powodzeniem izolowała enteroagregacyjne szczepy *E. coli*. Choroba rozpoczyna się wodnistą biegunką, która po pewnym czasie przechodzi w krwotoczną. Związek wymienionych bakterii ze stanami biegunkowymi jest jednak kwestionowany przez część badaczy (15,20). Rozbieżność zadań oraz brak kompleksowych informacji wymagają więc prowadzenia dalszych badań.

Adherencyjne szczepy *E. coli* (DAEC)

Z chwilą wyodrębnienia enteroagregacyjnych szczepów *E. coli* (EAEC), większość badaczy skłania się do uznania DAEC jako niezależnej kategorii. Ostatnie badania epidemiologiczne sugerują na związek tych bakterii z biegunkami u dzieci. Na zachorowania podatne są przede wszystkim dzieci w wieku 1–5 lat. Dane o zachorowaniach pochodzą z państw rozwijających się, chociaż ostatnie raporty z Francji potwierdzają również udział tych bakterii w schorzeniach biegunkowych u hospitalizowanych pacjentów na terenie tego kraju. W większości chorujących osób stwierdzono wodnistą biegunkę bez domieszki krwi.

Podana krótka charakterystyka sześciu kategorii chorobotwórczych szczepów *E. coli* nie wyczerpie pełnej listy czynników etiologicznych biegunek u ludzi na tle *E. coli*. Obecnie w literaturze (15) wymienia się dalsze serotypy będące przyczyną biegunek u ludzi, m. in. Cell – detaching *E. coli* (CDEC). Należy więc sądzić, że najbliższe lata uzupełnią listę brakujących serotypów, które bezspornie okażą się również chorobotwórcze dla człowieka.

Pośród wymienionych sześciu kategorii chorobotwórczych szczepów *E. coli*, szczególne miejsce zajmują enterokrwotoczne szczepy *E. coli* (EHEC), a wśród nich *E. coli* O157 (4, 5, 10, 18, 27, 28, 30). Rosnąca rola wymienionego serotypu w zachorowaniach u ludzi skłania do zwrócenia większej niż dotychczas uwagi na zwierzęta oraz żywność zwierzęcego pochodzenia (10, 15, 22, 25, 31, 32, 33, 34). Jak już wspomniano wcześniej, źródłem zakażenia ludzi wymienionymi bakteriami jest przede wszystkim mielona, niedopieczona wołowina, surowe mleko, skażone odchodami zwierząt surowe owoce i warzywa oraz woda (4, 9, 12, 22, 23, 24, 25). Według danych pochodzących z Center for Disease Control and Prevention w Atlancie, każdego roku

w USA *E. coli* O157 jest przyczyną przynajmniej 20 000 zachorowań i 250 zgonów. Na terenie Japonii w 1996 roku zanotowano ponad 6 000 przypadków zachorowań wywołanych przez verocytotoksyczne szczepy *E. coli*, z ponad 100 przypadkami HUS. Podobna sytuacja epidemiologiczna występuje również w niektórych innych krajach (3, 8, 9, 17, 20, 21, 26).

Jak wynika z licznych badań zagranicznych (1, 2, 7, 8, 28) głównym rezerwuarem EHEC jest bydło, szczególnie osobniki młode. Ponieważ w Polsce nie prowadzi się rutynowej diagnostyki tych niebezpiecznych patogenów, w Katedrze Higieny Produktów Zwierzęcych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie podjęto kompleksowe badania metodyczne i środowiskowe dotyczące *E. coli* O157. W prowadzonych od kilku lat badaniach określono m. in. częstotliwość występowania *E. coli* O157 u bydła rzeźnego na terenie Polski północnej.

Przedmiotem badań były próbki kału pobierane od bydła rzeźnego w okresie od stycznia do grudnia 1999 roku. Badaniom bakteriologicznym poddano 25 gramowe próbki, które namnażano w 225 ml zbuforowanej wody peptonowej (BPW) przez okres 6 godzin. W dalszych etapach badań stosowano immunomagnetyczną separację (IMS) przy użyciu Dynabeads® anti *E. coli* O157 (norweskiej firmy Dynal) i otrzymaną zawiesinę wysiewano na podłoże wybiórcze Mc Conkey Sorbitol Agar (Oxoid) z dodatkiem $0,05 \text{ mg l}^{-1}$ cefixime oraz $2,5 \text{ mg l}^{-1}$ tellurynu potasu (CT-SMAC). Po 24 godzinnej inkubacji w 42°C szczepy podejrzane o przynależność do *E. coli* O157 poddawano badaniom serologicznym przy użyciu *E. coli* O157 latex agglutination test (Oxoid) oraz badaniom biochemicznym stosując API test 20E (bio Mérieux). Cechy chorobotwórczości wyizolowanych szczepów *E. coli* O157 określane zostały w Katedrze Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego Uniwersytetu w Gent (Belgia) oraz w Referencyjnym Laboratorium Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu w Brukseli.

Zbadano łącznie 551 sztuk bydła, w tym 370 sztuk w wieku do 2 lat oraz 181 sztuk w wieku powyżej 2 lat. W przeprowadzonych badaniach enterokrwotoczne szczepy *E. coli* O157 wyizolowano od 4 sztuk, co stanowi 0,73 %. W trzech przypadkach wymienione bakterie wyizolowano od byczków w wieku do 2 lat i w jednym od jałówki, również w wieku do 2 lat. Wszystkie wyniki pozytywne uzyskano w trzecim i czwartym kwartale roku. Wyizolowane szczepy określono jako *E. coli* O157 : H⁻, które wytwarzały enterohemolizynę oraz toksyny shiga typ 1 i 2.

Przedstawione wyniki, uzyskane w badaniach własnych, różnią się od rezultatów otrzymanych w innych krajach. Liczba pozytywnych wyników stwierdzona w Polsce jest niska (0,73%) i zbliżona jest do wyników pozytywnych zarejestrowanych w państwach skandynawskich (Norwegia 0,3% i Szwecja 1,1%). Znacznie częściej izolowano *E. coli* O157 od bydła we Włoszech (3,6%), Anglii (4,0%), Francji (4,7%), Republice Czeskiej (6,2%), Belgii (6,3%), Hiszpanii (9,0%), Holandii (10,6%), Niemczech (10,8%) oraz USA (19,0%).

Zarówno w Polsce jak i w innych wymienionych krajach obserwowano sezonowość w występowaniu tych niebezpiecznych patogenów u bydła (7, 16, 27). Największą liczbę wyników pozytywnych uzyskano we wrześniu i październiku, głównie od bydła młodego (1–2 letniego).

Przedstawione dane, dotyczące zarówno Polski jak i wybranych państw świata wskazują, że *Escherichia coli* O157 występuje u bydła i może stanowić potencjalne zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi.

PIŚMIENNICTWO

1. Blanco M i in. Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* O157 : H7 and other verotoxin – producing *E. coli* in healthy cattle. *Epidemiol Infect* 1996; 117: 251–7.
2. Buelte M i in. Enterohemorrhagic *E. coli* strains (EHEC) – topicality in the Federal Republic of Germany? II. Incidence of VTEC strains in foods of animal origin. *Fleischwirtschaft* 1996; 76: 88–91.
3. Cartwright RY, Chahed M. Foodborne diseases in travellers. *Rapp. trimest. statist. sanit. mond* 1997; 50: 103.
4. Cassin MH i in. Risk assessment for *E. coli* O157 : H7 in ground beef hamburgers. *Materiały III konferencji "Food Microbiology" Liege, September 1998.*
5. De Zutter L, Uradziński J. Evaluation of short non selective enrichment step for the isolation of enterohemorrhagic *E. coli* O 157 from artificially contaminated cattle faeces. *Acta Clinica Belgica (abstracts)*, 1999; 54–1: 39.
6. De Zutter L, Tuteneel A, Houf K, Uradziński J. Methods for the isolation of *E. coli* O157. *Materiały międzynarodowego sympozjum-E.coli O157:H7 een gevaar voor u en mij?*, Gent, 9 September, 1999.
7. De Zutter L, Uradziński J, Pierard D. Prevalence of enterohemorrhagic *E. coli* O157 in Belgium slaughter cattle. *Acta Clinica Belgica* 1999; 54–1: 48.
8. Desmarchelier PM. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* – the Australian perspective.
9. Du Port HC i in. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *NEJM* 1971; 285, 1–9.
10. *J. Food Prot.* 1997; 60: 1447–50.
11. Józwik E. Effect of lactic acid and atmosphere packaging on survival of *E. coli* O157:H7. *Materiały Konferencji „E. coli O157:H7 een gevaar voor u en mij ?”.* September 9.1999. Merelbeke, Belgium.
12. Karakulska J, Nawrotek P. Identyfikacja i określenie zjadliwości cytotoksycznych szczepów *E. coli* metodami klasycznymi i PCR. *Medycyna Wet* 1999; 55: 129–33.
13. Kwiatek K, Różańska H. *Escherichia coli*, serotyp O157 : H7 – czynnik etiologiczny zatruc pokarmowych u ludzi. *Medycyna Wet* 1996; 52: 29–32.
14. Kwiatek K, Różańska H. Występowanie *Escherichia coli* O157 : H7 w żywności zwierzęcego pochodzenia. *Materiały X Kongresu PTNW, Wrocław 19–21 września 1996*, p. 502.
15. Larski Z. Niektóre nowsze dane dotyczące mikrobiologii i chorób zakaźnych. *Medycyna Wet* 1997; 53: 368.
16. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microb Rev* 1998; 11: 142–201.
17. Nerbick E i in. Occurrence of presumptive *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157 and verotoxinogenic bacteria on beef carcasses. *World Congress on Food Hygiene, The Hague 1997*. p. 187.
18. Osek J. *Escherichia coli* O157 – groźny patogen o szerokiej chorobotwórczości. *Medycyna Wet* 1999; 55: 215–21.
19. Osek J. Mechanizmy działania enterotoksyn *Escherichia coli*. *Medycyna Wet* 53.
20. Osek J. Metody genotypowe różnicowania patogennych szczepów *Escherichia coli* stosowane w epidemiologii molekularnej. *Medycyna Wet* 1999; 55: 367–71.
21. Paton JC, Paton AW. Pathogenesis and Diagnosis of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Infections. *Clin Microb Rev* 1998; 11: 450–479.
22. Pierard D. Epidemiology, clinical impact and virulence factors of verocytotoxin – producing *Escherichia coli* in Belgium. (Doctor's Dissertation), Vrije Universitet Brussel, 1998.

23. Rahn K i in. Persistence of *Escherichia coli* O157 : H7 in dairy cattle and the dairy farm environment. *Epidemiol Infect* 1997; 119: 251–59.
24. Rice DH i in. *Escherichia coli* O157 : H7 in cull dairy cows on farm and at slaughter. *J Food Prot* 1997; 60: 1386–7.
25. Simmons NA. Global perspectives on *Escherichia coli* O157 : H7 and other verocytotoxic *E. coli* spp.: UK views. *J Food Prot* 1997; 60: 1463–5.
26. Szteyn J, Dzwolak W, Kroll. Determination of *Escherichia coli* O157 : H7 in raw milk. 25-th International Dairy Congress Aarhus, Denmark 21–24 September 1998, p. 98.
27. Tarr PI i in. Verotoxigenic *Escherichia coli* infection: U. S. Overview. *J Food Prot* 1997; 60: 1466–71.
28. Tutenel AV, Houf K, De Zutter L, Uradziński J, Pierrard D, De Waele E i in. Prevalence of *E. coli* O157:H7 in Belgium cattle. Materiały międzynarodowego sympozjum – *E. coli* O157:H7 een gevaar voor u en mij?, Gent, 9 September, 1999.
29. Tutenel AV, Pierard D, Uradziński J, Józwick E, Pastuszczak M, Van Hende J i in.. Isolation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 from cattle in Belgium and Poland. *J. Food Prot.* (w druku).
30. Uradziński J, Pastuszczak M, Józwick E, De Zutter L, Pierard D. Występowanie *Escherichia coli* O157 u bydła rzeźnego na terenie województwa warmińsko-mazurskiego. Materiały XI Kongresu PTNW – *Annales UMCS* sec. DD, Lublin 21–23 września 2000, p. 259.
31. Uradziński J, Pastuszczak M, Józwick E. Prevalence of enterohemorrhagic *E.coli* in Polish slaughter cattle. Materiały międzynarodowego sympozjum-*E.coli* O157:H7 een gevaar voor u en mij?, Gent, 9 September, 1999.
32. Uyttendaele M, Józwick E., De Zutter L, Uradziński J, Pierard D, Debevere J. Effect of lactic acid on survival of *Escherichia coli* O157:H7. Fifth conference in food microbiology, 22–23 June 2000, Liege, Belgia.
33. Uyttendaele M, Józwick E., De Zutter L, Uradziński J, Pierard D, Debevere J. Effect of modified atmosphere packaging on survival of *Escherichia coli* O157:H7. Fifth conference in food microbiology, 22–23 June 2000, Liege, Belgia, p. 170.
34. Uyttendaele M., Józwick E, De Zutter L, Uradziński J, Pierard D, Debevere J. Effect of lactic acid on survival of *E. coli* O157:H7. EU Concrcted Action (CT98-3935), "Control of VTEC", 6–8 September 2000, Norwegian School of Veterinary Medicine, Oslo.
35. Uyttendaele M, Józwick E, De Zutter L, Uradziński J, Pierard D, Debevere J. Effect of lactic acid on survival of *E. coli* O157:H7. EU Concrcted Action (CT98-3935), "Control of VTEC", 6–8 September 2000, Norwegian School of Veterinary Medicine, Oslo.
36. Uyttendaele M, Józwick E, De Zutter L, Uradziński J, Pierard D, Debevere J. Effect of modified atmosphere packaging on survival of *E. coli* O157:H7. EU Concrcted Action (CT98–3935), "Control of VTEC", 6–8 September 2000, Norwegian School of Veterinary Medicine, Oslo.

Adres autora:

Jan Uradziński

Katedra Higieny Produktów Zwierzęcych

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

ul. M. Oczapowskiego 14

10-957 Olsztyn-Kortowo

TADEUSZ HUBERT DZBEŃSKI

ODZWIERZĘCE CHOROBY PASOŻYTNICZE SZERZĄCE SIĘ POPRZEC ŻYWNOŚĆ W POLSCE: METODY WYKRYWANIA PASOŻYTÓW

Zakład Parazytologii Lekarskiej PZH
Kierownik Zakładu: prof. dr hab. med. T.H. Dzbeński

Przedstawiono najważniejsze inwazje szerzące się za pośrednictwem żywności, ze szczególnym uwzględnieniem toksoplazmozy, włośnicy i tasiemczyc jelitowych. Omówiono obecną sytuację epidemiologiczną wymienionych inwazji, metody wykrywania pasożytów w żywności oraz sposoby zapobiegania zarażeniom.

Pasożyty zwierząt, które szerzą się na człowieka za pośrednictwem żywności należą, obok pasożytów przenoszonych przez owady, do najczęściej spotykanych i rekrutują się spośród tak odległych jednostek systematycznych jak pierwotniaki, robaki płaskie oraz robaki obłe. Zaliczamy do nich pasożyty takich gatunków, które w czasie cyklu rozwojowego osiągają postać inwazyjną dla człowieka po osiedleniu się w organizmach zwierzęcych lub roślinnych, służących człowiekowi za pożywienie. Stosownie do powyższej definicji pasożytem szerzącym się przez żywność będzie np. tasiemiec nieuzbrojony (*Taenia saginata*), który wytwarza zakaźne dla człowieka formy larwalne (wągry) w mięśniach zarażonej krowy, nie będzie natomiast *Giardia (Lamblia) intestinalis*, czy *Cryptosporidium parvum*, aczkolwiek zakaźne dla człowieka formy przetrwalnikowe tych pasożytów przedostają się niejednokrotnie do żywności i wody pitnej, wywołując epidemie.

Biorąc pod uwagę cechę swoistości w doborze żywiciela, pasożyty szerzące się za pośrednictwem żywności można podzielić na dwie grupy: do pierwszej należą takie, dla których człowiek jest jedynym żywicielem ostatecznym i dlatego nieodzownym do ich przetrwania w przyrodzie, przechodzą jednak niezbędny okres rozwoju w organizmie zwierzęcia będącego dla nich żywicielem pośrednim; druga grupa obejmuje pasożyty osiedlające się w organizmach wielu żywicieli, m.in. u człowieka, który nie jest jednak ich żywicielem ostatecznym lub głównym, ani też niezbędnym do utrzymania się w środowisku. Pasożyty należące do pierwszej grupy wywołują inwazje stosunkowo łatwe do opanowania i eradykacji, w odróżnieniu od zaliczanych do drugiej grupy, których zwalczanie jest trudne, ponieważ wymaga przerwania wielu współlistniejących łańcuchów transmisji. Przykładem pasożytów należących do pierwszej grupy są tasiemce – uzbrojony (*Taenia solium*) i nieuzbrojony (*Taenia saginata*), przykładem pasożytów z drugiej grupy mogą być włosień kręty (*Trichinella spiralis*) i toksoplazma (*Toxoplasma gondii*).

W zamieszczonej poniżej Tabeli I wyszczególniono najważniejsze pasożyty, które przenoszą się na człowieka za pośrednictwem żywności z uwzględnieniem gatunku

żywiciela głównego i pośredniego, rodzaju żywności zakaźnej dla człowieka oraz zasięgu występowania inwazji. Spośród grupy pasożytów wymienionych w Tabeli I zostaną omówione tylko te, które stanowią realne zagrożenie dla mieszkańców naszego kraju, pozostałe będą pominięte z powodu rozprzestrzenienia w odległych regionach geograficznych lub bardzo sporadycznego występowania na obszarze Polski.

Tabela I. Gatunki ważniejszych pasożytów zarażających człowieka za pośrednictwem żywności

Gatunek pasożyta	Źywiciel główny lub ostateczny	Źywiciel pośredni (przypadkowy)	Rodzaj zarażonej żywności	Występowanie pasożyta
Pierwotniaki				
<i>Toxoplasma gondii</i>	Kot	Człowiek i zwierzęta stałocieplne	Wieprzowina, baranina, wołowina (?)	Gatunek kosmopolityczny
<i>Sarcocystis suihominis</i>	Człowiek	Świnia	Wieprzowina	Gatunek kosmopolityczny
<i>Sarcocystis bovihominis</i>	Człowiek	Bydło	Wołowina	Gatunek kosmopolityczny
Robaki płaskie				
<i>Taenia saginata</i>	Człowiek	Bydło	Wołowina	Gatunek kosmopolityczny
<i>Taenia solium</i>	Człowiek	Świnia	Wieprzowina	Gatunek kosmopolityczny
<i>Diphyllobothrium latum</i>	Kot, pies, lis, niedźwiedź, człowiek i in.	Skorupiaki (<i>Cyclops</i> spp. <i>Diaptomus</i> spp.) i ryby (szczupak, okoń, pstrąg i in.)	Ryba	Strefy klimatu umiarkowanego i chłodnego
<i>Opisthorchis</i> spp.	Człowiek, kot, pies i in. odżywiający się rybami	Ślimaki i kilka gatunków ryb słodkowodnych	Ryba	Strefa klimatu umiarkowanego i chłodnego w Europie Wsch., Azji
<i>Clonorchis sinensis</i>	Człowiek, kot, pies i in. odżywiający się rybami	Ślimaki i kilka gatunków ryb słodkowodnych	Ryba	Daleki Wschód
<i>Fasciola</i> spp.	Bydło, owca, człowiek	Ślimak	Jadalne gat. rzęsy wodnej	Gatunek kosmopolityczny
<i>Fasciolopsis buski</i>	Bydło, owca, człowiek	Ślimak	Bulwy kasztana wodnego, kłącza bambusa, pędy ryżu itp.	Gatunek kosmopolityczny
<i>Echinostoma</i> spp.	Ptaki wodne, człowiek	Ślimaki, płazy, ryby	Ryba, jadalne gat. ślimaków	Daleki Wschód
<i>Heterophyes heterophyes</i>	Kot, pies, lis, człowiek	Ślimaki, ryby	Ryba	Strefa klimatu subtropikalnego

Tabela I cd.

Metagonimus yokogawai	Kot, pies, lis, człowiek	Ślimaki, krewetki, ryby	Ryba, krewetka	Daleki Wschód
Paragonimus spp.	Kot, pies, mała, człowiek	Ślimaki, krewetki, kraby	Krewetka, krab	Daleki Wsch., Afryka, Ameryka Płd.
Robaki obłe				
Trichinella spiralis britovi nativa nelsoni pseudospiralis(?)	Świnia, dzik, lis, szczur i in. gatunki mięsożernych, człowiek	(koń)	Wieprzowina, mięso dzika, konina	Gatunek kosmopolityczny, subarktyczny (nativa), tropikalny (nelsoni)
Anisakis spp.	Wieloryb, delfin, foka, morświn	Skorupiaki i ryby morskie: śledź, dorsz, makrele i in. (człowiek)	Ryba	Strefa klimatu umiarkowanego i chłodnego

Toxoplasma gondii

Jest pierwotniakiem szeroko rozpowszechnionym wśród ludzi i zwierząt stałocieplnych. Odsetek zarażonych osób w Polsce ocenia się na około 50. Inwazja jest przekazywana za pośrednictwem oocyst wydalanych do środowiska zewnętrznego z kałem zarażonych kotów, które są żywicielami ostatecznymi tego pasożyta lub za pośrednictwem cyst występujących m.in. w mięśniach zwierząt w przewlekłej postaci zarażenia. Cysty *T. gondii* stwierdzano w organizmach większości gatunków zwierząt domowych, m.in. u świń, owiec i kóz. Można przypuszczać, że spożywanie zarażonego mięsa wieprzowego jest najczęstszym sposobem przenoszenia inwazji na człowieka, ponieważ w większości krajów odsetek zarażonych świń przekracza 20 (8) i jest wyższy od odsetków zarażonych zwierząt innych gatunków. Opisywano pojedyncze epidemie wodne toksoplazmozy, które szerzyły się za pośrednictwem oocyst (5), jak dotąd poza granicami Polski.

Toksoplazmoza człowieka przebiega pod postacią wrodzoną lub nabytą. Konsekwencją zarażeń wrodzonych są zazwyczaj zmiany na dne oka, które doprowadzają do zaburzeń widzenia, a ponadto opóźnienie rozwoju umysłowego. Liczbę przypadków wrodzonych w Polsce szacuje się na 200–300 rocznie (11, 22). Postać nabyta inwazji przebiega zazwyczaj bezobjawowo u osób immunologicznie kompetentnych, natomiast u pacjentów z obniżoną czynnością układu odpornościowego, np. u chorych z AIDS, wywołuje zapalenie mózgu, doprowadzając do zejścia śmiertelnego około 20% zakażonych wirusem HIV (20).

Zapobieganie zarażeniom nabytym, szerzącym się za pośrednictwem żywności powinno polegać na dopuszczaniu do sprzedaży mięsa wolnego od cyst pasożyta oraz na spożywaniu takich pokarmów i napojów, które nie są zanieczyszczone oocystami *T. gondii*. Opracowano szereg metod laboratoryjnych, które umożliwiają wykrycie toksoplazmozy u zwierzęcia przeznaczonego do uboju lub rozpoznanie zarażenia tuszy poubojowej. Niektóre z metod polegają na bezpośrednim wykrywaniu samego pasożyta

albo integralnych składników jego organizmu, takich jak krążące antygeny rozpuszczalne lub kwasy nukleinowe, inne natomiast opierają się na pośrednim rozpoznawaniu zarażenia za pomocą testów oznaczających przeciwciała powstające w następstwie inwazji. Poszukiwanie cyst pasożyta w tuszy poubojowej metodą mikroskopowania tkanek jest zazwyczaj bezowocne z powodu małych rozmiarów pasożyta, nierównomiernego rozmieszczenia cyst w tkankach i niskiej intensywności inwazji. Najpewniejszą metodą wykrywania toksoplazm w powyższych okolicznościach jest przeprowadzanie prób biologicznych, polegających na izolowaniu pasożyta z tkanki mięśniowej, którą rozdrabnia się, a następnie trawi za pomocą zakwaszonego roztworu pepsyny, po czym wstrzykuje dootrzewnowo myszom (10). O dodatnim wyniku próby świadczą badania serologiczne myszy lub obecność pasożytów namnożonych w organizmie zwierzęcia. Zaletą prób biologicznych jest ich wysoka czułość, natomiast wadą – długi okres oczekiwania na wynik, który wynosi od 4. do 6. tygodni. Próby biologiczne stosowano z powodzeniem do oznaczania ekstensywności zarażeń wśród zwierząt hodowlanych (9), nie używano ich jednak w procedurze poubojowej kontroli mięsa, ograniczonej względami czasowymi.

W czasie ostrej inwazji toksoplazmowej można wykryć krążące antygeny rozpuszczalne pasożyta we krwi i innych płynach ustrojowych (24, 34). Aczkolwiek metody immunoenzymatyczne umożliwiają wykrywanie śladowych ilości antygenów krążących (0.3 ng/ml), nie nadają się jednak do stosowania w procedurze kontroli mięsa, która powinna stwarzać warunki do identyfikacji zarażeń przewlekłych. Wspomnianym wymaganiom mogą sprostać opisane ostatnio metody oznaczania kwasów nukleinowych pasożyta, zwłaszcza reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR), która pomaga stwierdzić obecność genu kodującego główny antygen powierzchniowy *T. gondii* – P30 (30) lub genu B1 o nieokreślonym jeszcze przeznaczeniu (6). Warunkiem rutynowego stosowania metody PCR do poubojowej kontroli tusz zwierząt rzeźnych będzie pełne zautomatyzowanie tej techniki oraz obniżenie bardzo obecnie wysokich kosztów badania.

Duże możliwości identyfikowania zarażonych zwierząt rzeźnych stwarzają metody serologiczne, polegające na wykrywaniu swoistych przeciwciał, jakie powstają w przebiegu inwazji. Spośród bogatego panelu wypróbowanych technik serologicznych najpochlebniejsze opinie zyskał początkowo odczyn aglutynacji bezpośredniej toksoplazm, który zastosowano z powodzeniem do diagnozowania toksoplazmozy u bydła (7) a potem u świń (9), stwierdzając wysoką czułość tego odczynu (82,9%) oraz zadowalającą swoistość (90,3%). Odczyn wymaga, niestety, dużych ilości antygeny diagnostycznego, przygotowywanego pod postacią utrwalaonych formaliną tachyzoitów, co przekreśla jego szanse na zastosowanie diagnostyczne w rzeźni oraz do rutynowych badań przeglądowych zwierząt hodowlanych. Odczyny immunoenzymatyczne ELISA zużywają mniej antygeny. Stosując pełny ekstrakt antygenowy trofozoitów *T. gondii* stwierdzono zadowalającą swoistość odczynu ELISA podczas badania zarażonych świń (9, 32). Wprawdzie czułość odczynu w badaniach Dubeya (9) sięgała tylko 72,9%, jednak w późniejszych badaniach Wingstranda i wsp. (36), którzy zastosowali modyfikację IgG Elisa, wskaźnik czułości wzrósł do 95,1%. Możliwość zastosowania odczynów immunoenzymatycznych do rutynowych badań poubojowych wiąże się z koniecznością standaryzacji tej metody, co obliguje z kolei do używania antygenów o sprecyzowanych właściwościach fizyko-chemicznych i immunobiologicznych. Ponieważ wymienione powyżej kry-

teria doboru antygeny do badań spełniają antygeny rekombinowane, przeprowadzono ocenę przydatności opracowanych nieco wcześniej preparatów o kryptonimach H₄ i H₁₁ (1). Oba antygeny rekombinowane reagowały w odczynie immunoenzymatycznym z przeciwciałami fazy ostrej zarażonych świń, nie wiązały się natomiast z przeciwciałami okresu przewlekłego (między 11. a 42. tygodniem inwazji). Wyniki przytoczonych badań uzasadniają zatem potrzebę kontynuowania prac zmierzających do opracowania bardziej przydatnych preparatów diagnostycznych.

Podsumowując podane wyżej uwagi należy stwierdzić, że nie ma obecnie metody laboratoryjnego rozpoznawania toksoplazmozy, która nadawała by się do stosowania w rutynowych badaniach poubojowych, w powyższej sytuacji nie dziwi więc brak rozporządzeń nakazujących przeprowadzanie takich badań w jakimkolwiek kraju na świecie. Zapobieganie przypadkom szerzącym się za pośrednictwem zarażonej żywności powinno obecnie polegać na dokładnej obróbce cieplnej potraw mięsnych, ponieważ procedura taka prowadzi do zniszczenia cyst pasożyta.

Tasiemczyce (*Taenia saginata* i *Taenia solium*)

Tasiemczyce szerzące się na człowieka za pośrednictwem zarażonej żywności, jakie zostaną omówione w obecnym opracowaniu ze względu na ich istotne znaczenie epidemiologiczne w Polsce, są powodowane przez tasiemca nieuzbrojonego (*Taenia saginata*) i tasiemca uzbrojonego (*Taenia solium*). Do zarażenia tasiemcem nieuzbrojonym dochodzi w następstwie spożycia wołowiny zawierającej formy larwalne pasożyta, tzw. wągry (*cysticercus*), natomiast inwazja tasiemca uzbrojonego jest wynikiem konsumowania wieprzowiny zarażonej larwami lub przypadkowego spożycia jaj tasiemca uzbrojonego. Po zarażeniu wągromi rozwijają się w jelicie cienkim człowieka postaci dorosłe tasiemców, a po spożyciu jaj tasiemca uzbrojonego wykształcają się u zarażonej osoby postaci larwalne, powodujące wągrycę. Inwazje przewodu pokarmowego dorosłymi formami tasiemców, aczkolwiek dokuczliwe dla zarażonej osoby, nie są niebezpieczne dla życia, natomiast wągryca może spowodować objawy groźne dla zdrowia i życia, zwłaszcza po osiedleniu się wągrows w ośrodkowym układzie nerwowym.

Liczba przypadków zarażenia tasiemcem nieuzbrojonym w Polsce wahała się w ostatnich latach między 368 (1999 r.) a 517 (1998 r.), tj. od 0,95 do 1,34 na 100 000 mieszkańców. Zarażenia występują na obszarze środkowej, zachodniej i północnej Polski, sporadycznie na terenie województw południowo-wschodnich – lubelskiego i podkarpackiego. Zarażenia tasiemcem uzbrojonym są znacznie rzadsze, do kilkunastu przypadków rocznie, zaś inwazje wągrycy notuje się najrzadziej, po kilka przypadków rocznie i nie we wszystkich latach obserwacji. Liczba przypadków tasiemczycy w Polsce wykazuje zdecydowaną tendencję spadkową od końca lat 70. (13), kiedy to rejestrowano blisko 5 000 przypadków zachorowań rocznie. Przeszło 80% wszystkich przypadków przypada na inwazje tasiemca nieuzbrojonego. Inwazję tę cechuje wyższa zapadalność wśród mieszkańców miast (5–6 razy w porównaniu do zapadalności ludności wiejskiej) oraz wśród kobiet (52–57% wszystkich przypadków). Około 25% przypadków stwierdza się u osób w wieku 40–49 lat.

Główne sposoby zapobiegania tasiemczycy polegają na dopuszczaniu do konsumpcji wyłącznie mięsa wolnego od wągrows oraz na obowiązkowym leczeniu osób zarażonych tasiemcem uzbrojonym, aby wykluczyć możliwość zanieczyszczenia środków spożyw-

czych jajami pasożyta i ustrzec przed wągrzycą. Organoleptyczna metoda badania mięsa na obecność wągrów tasiemca ma wieloletnią tradycję i jest powszechnie stosowana, przede wszystkim z uwagi na prostotę wykonania. Procedura badania obejmuje czynności nacinania mięśni oraz palpacji innych tkanek w celu znalezienia ukrytych wągrów. Do mięśni poddawanych skrupulatnym oględzinom należą język, przepona, żwacze a także mięśnie łopatki. Wadą metody jest czasochłonność oraz niezadowalająca czułość, co stało się powodem poszukiwania alternatywnych sposobów identyfikacji zarażonych zwierząt i tusz poubojowych. Największe nadzieje budzi obecnie możliwość zaadaptowania technik immunologicznych, jakie opracowano już wcześniej dla diagnozowania zarażeń u ludzi, tj. EITB (enzyme-linked immunoelectrotransfer blot) i odczynu immunoenzymatycznego ELISA w wersji wykrywającej przeciwciała. Pierwszą z wymienionych technik wykorzystano do rozpoznawania wągrzycy u świń w badaniach przedubojowych stwierdzając 100% czułość i swoistość (17), drugą do wykrywania inwazji u świń i bydła (19). Ponieważ obecne możliwości pozyskiwania antygenów *T. solium* i *T. saginata* nie sprostają zapotrzebowaniom na ilości niezbędne do badań masowych, proponuje się wykorzystywanie łatwiej dostępnych antygenów heterologicznych lub rekombinowanych. Źródłem antygenów heterologicznych może być *Taenia hydatigena* lub *T. crassiceps* (łatwy do utrzymywania na myszach). Pierwszy z wymienionych gatunków tasiemca może być źródłem antygeny do diagnozowania cysticerkozy u bydła (25), drugi do identyfikacji zarażeń trzody chlewnej (3). Spośród antygenów rekombinowanych zastosowanie diagnostyczne powinien znaleźć w przyszłości preparat TcA2-MBP, kodowany przez sekwencje DNA *T. crassiceps* (37), ewentualnie któryś z 5. antygenów wyklonowanych przez Mantouchariana i wsp (21).

Aczkolwiek perspektywy rutynowego stosowania metod wykrywających przeciwciała wydają się obecnie całkiem dobre, zależą jednak w dużej mierze od odpowiedzi na następujące pytania: jak długo przeciwciała utrzymują się w organizmie zarażonego zwierzęcia oraz czy obecność przeciwciał w surowicy krwi jest równoznaczna z obecnością żywych wągrów w tkankach zwierzęcia. Według Bogh i wsp. (4) u zarażonego doświadczalnie bydła po upływie 10. tygodnia inwazji opada poziom swoistych przeciwciał, a po upływie 22 tygodni nie można znaleźć żywych wągrów, natomiast wg Kyvsgaard i wsp. (19) przeciwciała utrzymują się u zarażonego bydła przez co najmniej 2,5 lat.

Na zakończenie trzeba wspomnieć o potencjalnych możliwościach diagnostycznych metod umożliwiających rozpoznawanie wągrzycy na podstawie obecności krążących antygenów rozpuszczalnych pasożyta. Sądząc po wynikach uzyskanych przez Rodriguez-del-Rosai i wsp. (27) możliwości tych metod są bardzo duże, wykazują bowiem czułość bliską 80% i swoistość równą 97%, nie ustalono jednak przy jakim stopniu intensywności inwazji można liczyć na obecność antygeny w surowicy krwi badanego zwierzęcia.

Metody z zakresu biologii molekularnej nie były jak dotąd wykorzystywane do rozpoznawania inwazji, lecz do różnicowania gatunku wykrytego już pasożyta (26), trudno więc o racjonalną ocenę ich przyszłej roli w diagnozowaniu wągrzycy zwierząt.

Streszczając informacje dotyczące praktycznych możliwości wykrywania wągrzycy u zwierząt hodowlanych i rzeźnych należy podkreślić, że pomimo ogromnego postępu w dziedzinie immunodiagnostyki inwazji oraz możliwości identyfikowania DNA paso-

żyta, trzeba wciąż polegać na metodach najstarszej generacji, tj. metodach organoleptycznych. Ponieważ czułość metod organoleptycznych nie jest zadowalająca, ryzyko zarażenia człowieka tasiemczycą należy zmniejszać propagując zwyczaję jądania tylko takich potraw mięsnych, które są przyrządzane w odpowiednio wysokiej temperaturze.

Włośnica

Włośnica jest następstwem spożycia surowego lub półsurowego mięsa zawierającego larwy inwazyjne nicieni z rodzaju *Trichinella*. Przyczyną zarażeń w Polsce jest zazwyczaj spożycie wieprzowiny lub mięsa dzika zarażonego larwami *T. spiralis*. (Występujące na obszarze naszego kraju zarażenia *T. britovi* stwierdzano jak dotąd tylko u lisów rudych). Liczba przypadków włośnicy u ludzi waha się od kilkudziesięciu do kilkuset rocznie (33 przypadki w r. 1998; 263 w 1999r.; 36 w 2000 r.). Zachorowania występują corocznie na terenie województw centralnych, północnych i zachodnich, natomiast w południowo-wschodniej Polsce zdarzają się, podobnie jak tasiemczyce, bardzo rzadko.

Przebieg kliniczny włośnicy zależy od gatunku pasożyta, liczby spożytych larw oraz stanu odporności zarażonej osoby, wahając się od bezobjawowego poprzez lekki, średniociężki i ciężki do śmiertelnego. Przypadki śmiertelne dotyczą zazwyczaj osób w starszym wieku; ostatni zgon z powodu włośnicy zanotowano w Polsce w r. 1992 (31).

Ponieważ leczenie swoiste włośnicy daje mało zadowalające wyniki, gdyż podejmuje się je zazwyczaj po wystąpieniu rozwiniętych już objawów klinicznych inwazji, dlatego szczególnie ważna rola przypada zapobieganiu zarażeniom. Zapobieganie włośnicy u ludzi polega na podejmowaniu działań a) wyprzedzających wystąpienie zachorowań lub ognisk epidemicznych b) wszczynanych z chwilą stwierdzenia zachorowań na włośnicę w danym ognisku epidemicznym (18). Przedmiotem obecnego opracowania będą metody działań wyprzedzających, które umożliwiają zaopatrywanie rynku w mięso nie stwarzające zagrożeń włośnicą. Można je podzielić na metody zapobiegające zarażeniu świń w czasie hodowli, metody umożliwiające stwierdzenie zarażenia poszczególnych sztuk podczas badań przed-i poubojowych oraz metod dewitalizacji larw pasożyta w mięsie przeznaczonym do spożycia.

Zapobieganie zarażeniom trzody chlewnej polega na poprawie warunków hodowli w taki sposób, aby uniemożliwić dostęp gryzoni mogących stanowić źródło zarażenia świń oraz na wyeliminowaniu zwyczaju skarmiania zwierząt odpadami mięsa, zwłaszcza nie poddanego wcześniej działaniu wysokiej temperatury (gotowanie).

Metody stosowane w badaniach poubojowych należą do rutynowo wykorzystywanych w ocenie bezpieczeństwa konsumpcyjnego i opierają się na poszukiwaniu larw włośnicy w tuszy poubojowej. Badania przeprowadza się za pomocą trychinoskopii oraz metody wytrawiania larw w sztucznym soku żołądkowym. Do badań trychinoskopowych pobiera się skrawki mięśni z przepony, języka, żwaczy i mięśni brzucha o masie do 1 g, umieszcza w kompresorze i ogląda pod mikroskopem. Badanie nie zawodzi, gdy liczba larw w 1 g mięśni jest wyższa od 3 (29). Bardziej czuła jest metoda wytrawiania larw, umożliwia bowiem wykrycie takiej inwazji, w której na 1 g mięśni przypada średnio 1 żywa larwa pasożyta (pod warunkiem, że próbka poddana wytrawianiu nie będzie mniejsza od 5 g) (15).

Oprócz metod wykrywających pasożyta w sposób bezpośredni stosowane są również pośrednie metody immunologiczne, które polegają na wykrywaniu przeciwciał włośnicowych. Należy do nich odczyn immunoenzymatyczny ELISA, zastosowany w badaniu przedubojowym świń przez Ruitenberga i wsp. (28) oraz van Knapena i wsp. (35). Odczyn umożliwia rozpoznawanie mało intensywnych inwazji (1 larwa na 100 g tkanki), jest swoisty w wersji wykorzystującej antygeny wydzielniczo-wydalnicze pasożyta (14) i możliwy do przeprowadzenia za pomocą handlowych zestawów diagnostycznych w czasie krótszym od godziny. Podczas badań wykonywanych w czasie uboju pozytywny wynik odczynu bywa niekiedy potwierdzany metodą wytrawiania larw, do czego wykorzystuje się 100 g tkanki pobranej od serologicznie dodatniego zwierzęcia. Opracowano ostatnio wersję umożliwiającą wykrywanie przeciwciał w soku tkankowym otrzymywanym przez zamrażanie i rozmrażanie próbki 10 g przepony (16). Wadą odczynów immunoenzymatycznych są wyniki fałszywie ujemne w początkowym okresie inwazji. Po wystąpieniu serokonwersji odczynu pozostają dodatnie przez co najmniej 6 miesięcy i nie wykazują spadku miana przeciwciał. W niektórych wersjach odczynów ELISA próbowano zastępować naturalne antygeny wydzielniczo-wydalnicze antygenami rekombinowanymi (32) z miernym jednak powodzeniem, ponieważ metoda rekombinacji nie może odtworzyć struktury glikoproteinowej, jaką posiadają immunodominujące antygeny włośnia.

Do pośrednich metod rozpoznawania inwazji, które zastosowano w diagnostyce włośnicy, należą również metody wykrywające krążące antygeny rozpuszczalne pasożyta. Metody te użyto do badania zwierząt zarażonych zarówno naturalnie jak i doświadczalnie (np. 12) stwierdzając, że są użyteczne we wczesnej fazie włośnicy, natomiast w późniejszym okresie zarażenia bywają często ujemne i dlatego nie nadają się do stosowania w badaniach rutynowych.

Metody z zakresu biologii molekularnej, takie jak PCR, RAPD czy też metody polegające na użyciu sond genetycznych zostały zastosowane w różnicowaniu gatunku włośnia (np. 2) ale nie wykorzystywano ich dotychczas do rozpoznawania włośnicy.

Ostatni rodzaj działań wyprzedzających, które zmniejszają zagrożenie włośnicą i wymagają krótkiego omówienia w niniejszym opracowaniu, obejmuje metody dewitalizacji larw *Trichinella*. Należą do nich metody niszczenia larw przez a) dokładną obróbkę termiczną mięsa w podwyższonej temperaturze b) poddawanie surowych tusz mięsnych działaniu niskich temperatur (np. -17°C przez 20 dni albo -29°C przez 6 dni) c) napromienienie tusz przy użyciu promieni γ w dawce co najmniej 15 Krad (18). Ostatnia z wymienionych metod jest wprawdzie zalecana przez FDA w Stanach Zjednoczonych, ale nie używana jeszcze w Polsce.

Istnieją podstawy aby sądzić, że przeprowadzanie działań wyprzedzających, zwłaszcza skrupulatnej kontroli weterynaryjnej, powinno zapewnić dostawę mięsa autentycznie wolnego od włośni, poza tym może doprowadzić do wykorzenienia inwazji wśród trzody chlewnej (Pozio 1998). Zagrożenie włośnicą będzie się jednak utrzymywało, ponieważ *Trichinella*, tak jak *Toxoplasma*, należy do pasożytów wielożywicielowych, mocno osadzonych w przyrodzie.

PIŚMIENNICTWO

1. Andrews AM, Dubey JP, Tenter AM i in. *Toxoplasma gondii* recombinant antigens H4 and Hil. Use in ELISAs for detection of toxoplasmosis in swine. *Vet Parasitol* 1977, 70: 1–11.
2. Bandi C, La Rosa G, Bardin MG i in. Arbitrarily primed polymerase chain reaction of individual *Trichinella* specimens. *J Parasitol* 1993, 79: 437–40.
3. Biondi GF, Mucciolo RG, Nunes CM, i in. Immunodiagnosis of swine cysticercosis by indirect ELISA employing a heterologous antigen from *Taenia crassiceps* metacestode. *Vet Parasitol* 1996, 64: 261–6.
4. Bogh HO, Gronvold J, Maeda GE i in. Experimental single and trickle infections of cattle with *Taenia saginata*: studies of immunodiagnosis. *Res Vet Sci* 1996, 60: 6468.
5. Bowie WR, King AS, Werker DH i in. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet* 1997, 350: 173–7.
6. Burg JL, Grover CM, Pouletty P i in. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii* by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1989, 27: 1787.
7. Dubey JP, Desmonts G, McDonald C i in. Serologic evaluation of cattle inoculated with *Toxoplasma gondii*: comparison of Sabin–Feldman dye test and other agglutination tests. *Amer J Vet Res* 1985, 46: 1085–8.
8. Dubey JP. *Toxoplasmosis*. *J Amer Vet Med. Assoc* 1994, 205: 1593–8.
9. Dubey JP, Thulliez P, Weigel RM i in. Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *Amer J Vet Res* 1995, 56: 1030–6.
10. Dubey JP. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. *Vet Parasitol* 1998, 74: 75–7.
11. Dzbeński T, Kopaczowa G. Uwagi na temat epidemiologii i profilaktyki toksoplazmozy. *Przegl Epidemiol* 1984; 38: 235–41.
12. Dzbeński TH, Bitkowska E, Płonka W. Detection of a circulating parasitic antigen in acute infections with *Trichinella spiralis*: diagnostic significance of findings. *Zbl Bakt* 1994, 281: 519–25.
13. Dzbeński T. Parazytozy jelitowe człowieka. W: J. Kostrzewski, W. Magdzik, D. Naruszewicz–Lesiuk, red. *Choroby zakaźne i ich zwalczanie na ziemiach polskich w XX wieku*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2001, str.301–12.
14. Gamble HR, Anderson WR, Graham CE i in. Serodiagnosis of swine trichinosis using an excretory–secretory antigen. *Vet Parasitol* 1983; 13: 349–61.
15. Gamble HR, Solomon MB, Gajadhar AA. Detection methods for trichinellosis in horses. *J Food Protec* 1996; 59: 420–5.
16. Gamble HR, Patrascu IV. Whole blood, serum, and tissue fluids in an enzyme immunoassay for swine trichinellosis. *J Food Protec* 1996; 59: 1213–7.
17. Gonzales AE, Cama V, Gilman RH i in. Prevalence and comparison of serologic assays, necropsy, and tongue examination for the diagnosis of porcine cysticercosis in Peru. *Amer J Trop Med. Hyg* 1990; 43: 194–9.
18. Kocięcka W. Włosień kręty i włośnica. *Volumed*, Wrocław 1996, str. 147.
19. Kyvsgaard NC, Ilsoe B, Henriksen SA i in. Evaluation of an enzyme–linked immunosorbent assay (ELISA) for detection of *Taenia saginata* cysticercosis in cattle. *Acta Vet Scand* 199; 32: 233–41.
20. Luft BJ, Hafner MD, Korzun AH. Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med*. 1993; 329: 995–1000.
21. Manoutcharian K, Rosas G, Hernandez M i in. Cysticercosis: identification and cloning of protective recombinant antigens. *J Parasitol* 1996; 82: 250–54.

22. Pawłowski Z. Epidemiologia toksoplazmozy i jej zapobieganie. W: Milewska-Bobula B, red. Toksoplazmoza. Chris-Comp, Warszawa 1999, str. 15-23.
23. Pozio E. Trichinellosis in the European Union: epidemiology, ecology and economic impact. Parasitol Today 1998; 14: 25-38.
24. Raizman RE, Neva FA. Detection of circulating antigen in acute experimental infections with *Toxoplasma gondii*. J Infect Dis 1975; 122: 44-8.
25. Rhoads ML, Murrell KD, Dilling GW i in. A potential diagnostic reagent for bovine cysticercosis. J Parasitol 1985; 71: 779-87.
26. Rishi AK, MacManus DP. Molecular cloning of *Taenia solium* genomic DNA and characterisation of taeniid cestodes by DNA analysis. Parasitol 1988, 97: 161-176.
27. Rodriguez-del-Rosai E, Correa D, Flisser A. Swine cysticercosis: detection of parasite products in serum. Vet Rec 1989; 124: 488.
28. Ruitenbergh EJ, Steerenberg PA, Brosi BJ i in. Reliability of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of *Trichinella spiralis* infections in conventionally raised pigs. J Immunol Meth 1976; 10: 67-83.
29. Ruitenbergh EJ, Van Knapen F, Vermeulen CJ. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in *Trichinella spiralis* infection in pigs. W: Kim CW, Pawłowski ZS, red. Trichinellosis. Univ Press N Engl, Hanover 1978, pp. 487-99.
30. Savva U, Holliman RE. Diagnosis of toxoplasmosis using DNA probes. J Clin Pathol 1990; 43: 260-1.
31. Seroka D, Przybylska A. Włośnica. W: Kostrzewski J, Magdzik W, Naruszewicz-Lesiuk D, red. Choroby zakaźne i ich zwalczanie na ziemiach polskich w XX wieku. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2001, str. 399-407.
32. Su X, Prestwood AK, McGraw RA. Cloning and expression of complementary DNA encoding an antigen of *Trichinella spiralis*. Mol Bioch Parasitol 1991; 45: 331-6.
33. Takahashi J, Konishi E. Quantitation of antibodies to *Toxoplasma gondii* in swine sera by enzyme-linked immunosorbent assay. J Immunol 1986; 7: 272-5.
34. Van Knapen F, Panggabean SO. Detection of circulating antigen during acute infections with *Toxoplasma gondii* by enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol 1977; 6: 545-7.
35. Van Knapen F, Franchimont JH, Ruitenbergh EJ i in. Comparison of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with three other methods for the detection of *Trichinella spiralis* infections in pigs. Vet Parasitol 1980; 7: 109-121.
36. Wingstrand A, Lind P, Haugegaard J i in. Clinical observations, pathology, bioassay in mice and serological response at slaughter in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. Vet Parasitol 1997; 72: 129-140.
37. Zarlenga US, Rhoads MI, Al-Yarnan FM. A *Taenia crassiceps* cDNA sequence encoding a putative immunodiagnostic antigen for bovine cysticercosis. Mol Bioch Parasitol 1994; 67: 215-23.

Adres autora:

Tadeusz H. Dzbeński

Zakład Parazytologii Lekarskiej Państwowego Zakładu Higieny

Chocimska 24, 00-791 Warszawa

RAYMOND BRADLEY

OBECNA SYTUACJA BADAŃ NAD PASAŻOWALNYMI ENCEFALOPATIAMI GĄBCZASTYMI

Private BSE Consultant
Veterinary Laboratories Agency

Artykuł zaprezentowano na konferencji „Food Safety Assurance in the Pre-harvest Phase”, która odbyła się w dniach od 30 września do 2 października 2000 r. w Wiedniu.

W pracy przedstawiono historię badań encefalopatii gąbczastej bydła (bovine spongiform encephalopathy, BSE) w odniesieniu do znaczenia dla zdrowia publicznego, działań weterynaryjnych, zastosowanych działań zapobiegawczych. BSE Inquiry (Phillips, Bridgeman and Ferguson-Smith, 2000) opublikowało pełne dane o epidemii BSE w Zjednoczonym Królestwie do dnia 3 marca 1996r. Informacja o aktualnym stanie epidemii publikowana jest przez Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF) w „Progress Reports” – na przykład MAFF (2000) i poprzednie.

Słowa kluczowe: pasażowalne encefalopatie gąbczaste (TSE), BSE, wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba (vCJD), choroba prionowa, ochrona zdrowia publicznego, ochrona weterynaryjna.

WSTĘP

Pasażowalne encefalopatie gąbczaste (animal transmissible spongiform encephalopathies, TSE) do roku 1985, nie były postrzegane jako zagrażające zdrowiu publicznemu. Scrapie, którą uważano za chorobę atakującą jedynie owce (rzadziej kozy i mufłony), znano w Europie już w XVIII wieku. TSE notowano także, chociaż rzadko wśród innych zwierząt hodowlanych – norek (transmissible mink encephalopathy, TME) oraz u różnych gatunków północnoamerykańskich jeleniowatych (chronic wasting disease, CWD). Badania epidemiologiczne przeprowadzone przez Brown (1980) oraz Chateleine i wsp. (1981) dowiodły, że scrapie nie należy do zoonoz. Choroba przenoszona jest głównie drogą horyzontalną między owcami oraz drogą wertykalną z pokolenia na pokolenie co, w sytuacji braku testu diagnostycznego, powoduje trudności z jej eradykacją. Żadnego z przypadków choroby Creutzfeldta-Jakoba (CJD), ludzkiego odpowiednika scrapie owiec, nie powiązano z zakażonym materiałem pochodzącym od owiec – ani w wyniku spożycia, ani w wyniku narażenia zawodowego. Rodzinne występowanie CJD jest rzadkie w następstwie dziedziczenia zmutowanego genu PrP. Wykazano możliwość przeniesienia tej formy CJD eksperymentalnie. U zwierząt nie zanotowano występowania rodzinnego lub dziedzicznej postaci TSE. Należy jednak zwrócić uwagę, że polimorfizm genu PrP wpływa na długość okresu wylegania eksperymentalnie wywołanej TSE u myszy i owiec (ale nie u bydła eksponowanego na zakażenie BSE).

Pewne kombinacje różnych form tego samego genu (alleli) u owiec wydają się chronić owce przed rozwojem choroby w wyniku naturalnej ekspozycji. W celu zwiększenia odsetka owiec odpornych niektóre kraje wykorzystują tę właściwość i dokonują selekcji baranów odpornych na scrapie (scrapie-resistant rams). Osoby będące heterozygotami w kodonie 129 genu Prp – około 50% populacji kaukaskiej – również wydają się być odporne na CJD, szczególnie, że wszystkie osoby u których rozpoznano nowy wariant CJD (vCJD – patrz dalej) są w tej pozycji homozygotami metioninowymi (MM).

Zachorowania na sporadyczną postać CJD w Australii i Nowej Zelandii pojawiają się, podobnie jak na świecie, z częstotliwością 1 do 2 zachorowań na 1 milion mieszkańców w stosunku rocznym. Jednocześnie w żadnym z tych krajów nie zgłoszono przypadków scrapie lub BSE. Stanowi to naukową zagadkę ze względu na występowanie najbardziej powszechnej formy CJD (sporadyczne zachorowania na CJD stanowią około 85% zachorowań) w ludzkiej populacji przy czym transmisję między ludźmi opisywano jedynie w rzadkich przypadkach jatrogennych. Niewielka liczba zakażeń opisywana w przeszłości wystąpiła w wyniku używania sprzętu neurochirurgicznego lub elektrod, których sterylizacja nie spełniała wymogów ochrony przed zakażeniem CJD, przeszczepiania rogówki, opony twardej lub podawania hormonu wzrostu i gonadotropiny uzyskanych z przysadek pobranych ze zwłok. Przypuszczalnie pacjenci poddani operacjom mogli być wcześniej chorzy na CJD lub źródłem zakażenia mogli być dawcy tkanek. Wprowadzenie odpowiednich działań opanowało transmisję tego typu zakażeń.

Sytuacja uległa zmianie po wykryciu w Zjednoczonym Królestwie w listopadzie 1986 r. (Wells i in. 1987) BSE u bydła mlecznego a zwłaszcza po ogłoszeniu, 20 marca 1996 r., przez Sekretarza Stanu w Ministerstwie Zdrowia Wielkiej Brytanii wystąpienia 10 przypadków vCJD u młodych ludzi. Najbardziej wiarygodnym wytłumaczeniem tej sytuacji było narażenie na odpady poubojowe zanim, w 1989 r., wprowadzono zakaz ich stosowania do produkcji żywności (patrz dalej). Konsekwencje odkrycia odbijają się szerokim echem na całym świecie do dnia dzisiejszego. W dalszej części przedstawione zostaną cechy charakterystyczne tej cichej epidemii i sposoby ochrony ludzi i zwierząt w oparciu o wyniki badań naukowych i zdobyte doświadczenie.

HISTORIA TSE

Choroby znane określane obecnie jako TSE mogły być znane już w starożytności ale ze względu na rzadkie ich występowanie nie poświęcano im należytej uwagi, aż do przełomu XIX i XX wieku. Do końca lat 1930 nie określono możliwości ich transmisji.

SCRAPIE

Scrapie należy do najstarszych, znanych TSE. Występowanie jej datuje się na czasy biblijne i rzymskie lecz najwcześniejszy, dokładny opis kliniczny choroby przedstawił badacz niemiecki Leopoldt w 1959 r. (1759). Wczesne doniesienia dostępne w literaturze angielskiej, francuskiej, niemieckiej, węgierskiej i hiszpańskiej odnoszą się tylko do występowania choroby u owiec. Dzisiaj wiadomo, że scrapie występuje także, choć rzadziej, u kóz i muflonów (*Ovis musimon*). Owce można uważać za główny naturalny rezerwuar i źródło zakażenia pozostałych gatunków. Objawy kliniczne najczęściej są opisywane u osobników dorosłych. Choroba rozpoczyna się podstępnie. Objawy są

charakterystyczne i obejmują zmiany zachowania, ataksję i ogólne osłabienie. Często występuje świąd – w wyniku ocierania zwierzęta tracą wełnę.

Jeśli scrapie wystąpi raz w danym kraju lub stadzie niezmiernie trudno ją wykorzenić, nawet stosując bezwzględne wybijanie zwierząt z jednej linii. Wynika to z faktu, że choroba występuje endemicznie i przenosi się między owcami – wertykalnie i horyzontalnie. Łożysko ulega zakażeniu i uważa się, że jest zarówno wektorem bezpośredniej transmisji choroby jak i pośrednim – przez skażenie wybiegu i pastwiska. Uważa się, że największa liczba nowych zakażeń dotyczy młodych jagniąt. Zakaźność, wykrywana poprzez wszczepienie materiału myszom, pojawia się w układzie limfatycznym przed ukończeniem pierwszego roku życia a (u owiec rasy Suffolk) w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) około drugiego roku życia (Hadlow i in. 1982). OUN posiada najwyższy stopień zakaźności w fazie klinicznej. Mleko i mięśnie nie wykazują zakaźności, nawet w fazie wystąpienia objawów klinicznych.

CHOROBA CREUTZFELDTA-JAKOBA (CJD) I KURU

U ludzi pierwszą chorobą z grupy encefalopatii gąbczastych, CJD, opisano w latach dwudziestych XX w. Jako pierwsi możliwość transmisji choroby (na szympanasy) opisali Gibbs i wsp. w 1968 r. Cechy anatomopatologiczne, podobnie jak w przypadku innych TSE, obejmują zmiany gąbczaste istoty szarej, astrocytozę i obumieranie komórek nerwowych. W szczególnych wypadkach w mózgu chorych znajduje się złogi amyloidu uważane obecnie za agregaty białka prionu – PrP^{Sc}. Typowe objawy kliniczne obejmują szybko rozwijające się otępienie i ataksję będącą późnym objawem choroby. W przebiegu choroby obserwuje się znaczną zmienność objawów. Zależy ona od formy CJD, genotypu PrP osoby chorej, drogi zakażenia i szczepu prionu. CJD występuje na całym świecie z przeciętną częstotliwością 1–2 zachorowania na 1 milion mieszkańców w stosunku rocznym. W porównaniu do scrapie tkanki nerwowe obwodowe i nienerwowe wykazują niższą zakaźność.

Kuru jest geograficznie zlokalizowaną TSE ludzi występującą wśród plemienia Fore na Nowej Gwinei. W przeszłości była przyczyną większości zgonów w plemieniu. Obecnie choroba uległa niemal całkowitej eliminacji. Obserwowany okres wylegania wynosi ponad 40 lat. Choroba znana jest także jako „śmiejąca się śmierć” od wyrazu twarzy umierających z powodu tej choroby. Kuru nie badano aż do lat 1950. W oparciu o badania epidemiologiczne i anatomopatologiczne Gajdusek i wsp. ostatecznie opisali kuru jako TSE (1966). Hadlow i wsp., którzy badali scrapie u owiec, zalecali, ze względu na podobieństwa neuropatologiczne kuru i scrapie, badania transmisji zakażenia na zwierzętach laboratoryjnych – naczelnych (1959). Przeniesienie zakażenia na szympanasy zakończyło się sukcesem. Wyniki prac ogłosił Gajdusek i wsp. (1966). W przeciwieństwie do CJD, kuru manifestuje się głównie ataksją. Otępienie jest objawem późnym. Przyczyną szerzenia się kuru w plemieniu Fore było spożywanie ciał zmarłych członków rodzin w trakcie ceremonii pogrzebowych. Oprócz tej drogi do zakażenia mogło dochodzić także w wyniku zakażenia ran i otarć nabytych w dżungli. Zakaz kanibalizmu wprowadzony przez władze australijskie w latach 1950. przyczynił się do eliminacji choroby.

INNE TSE ZWIERZĄT DO ROKU 1985

W 1985 r. poza scrapie znano dwie inne TSE zwierząt. Należały tu TME norek hodowlanych i CWD jeleniowatych w Ameryce Północnej. Żadna z tych chorób nie wystąpiła w krajach dotkniętych BSE, dlatego jest mało prawdopodobne, że BSE pochodzi od TME lub CWD. TME dotyka i zabija niemal wszystkie dorosłe norki na zaatakowanych fermach. Nie opisano przypadku TME zwierząt dzikich. CWD występuje sporadycznie wśród zwierząt w parkach i ogrodach zoologicznych. Ostatnio opisano CWD dzikich zwierząt.

BSE I NOWE TSE ZWIERZĄT PO 1985 R.

Latem 1986 r., w ogrodzie zoologicznym w Wielkiej Brytanii, rozpoznano pojedynczy przypadek encefalopatii gąbczastej u antylopy afrykańskiej (*Tragelaphus angasi*). Wówczas przypadek ten stanowił niezwykle przedmiot zainteresowania, ale w rzeczywistości zapowiadał coś bardziej groźnego – pierwsze przypadki BSE u bydła. Zidentyfikowano je w listopadzie 1986 r. Badania epidemiologiczne wykazały, że pierwsze kliniczne zachorowanie na BSE pojawiło się prawdopodobnie już w kwietniu 1985 r. W roku 1987 i latach następnych epidemia BSE u bydła rozszerzała się, a sporadyczne przypadki encefalopatii gąbczastej wykrywano w ograniczonym zakresie wśród dzikich przeżuwaczy w ogrodach zoologicznych i parkach krajobrazowych (Kirkwood i Cunningham, 1994). W Wielkiej Brytanii, w 1990 r. opisano pierwsze przypadki encefalopatii gąbczastej kotów (feline spongiform encephalopathy, FSE) u kotów domowych (Wyatt i wsp., 1990, Pearson i wsp. 1993). Przypadki takie zgłoszono również w Norwegii i Liechtensteinie, jednak nie były one powiązane z zachorowaniami opisanymi w Wielkiej Brytanii.

Obecnie FSE opisano u szeregu innych gatunków dzikich kotów – gepardów, lwów, tygrysów, pum i ocelotów (Bradley, 1997b, MAFF, 2000, informacja własna). U wszystkich wymienionych gatunków wystąpiły objawy neurologiczne. Wykonane badania mózgow wykazały obecność PrP^{Sc}.

POCHODZENIE BSE I NOWYCH TSE

W roku 1987 zapoczątkowano badania epidemiologiczne nad BSE. W tym samym roku ustalono, że jest to nowa choroba o średnim okresie wylęgania około 60 miesięcy. Oceniono, że do narażenia doszło w latach 1981–1982. Przyczyną zakażenia było podwyższone narażenie na czynnik podobny do tego, który wywołuje scrapie (scrapie-like agent) poprzez żywienie koncentratami pasz. Nośnikiem zakażenia w paszach były mączki mięsno – kostne (meat-and-bone-meal, MBM) (Wilesmith i in., 1988). Narażenie określono jako podwyższone ponieważ MBM stosowano do karmienia zwierząt hodowlanych, w tym bydła, przez dziesiątki lat. Długość okresu wylęgania i moment narażenia określono w odniesieniu do zmian dokonanych w procesie przetwarzania odpadów zwierzęcych w celu przygotowania MBM, jakie miały miejsce w okresie przypuszczalnego skutecznego narażenia (Wilesmith, Ryan i Atkinson, 1991). Badania epidemiologiczne wyjaśniły również przyczynę występowania choroby wśród dzikich, przetrzymywanych w niewoli zwierząt z rodziny krętorogich (*Bovidae*). Zwierzęta te karmiono tą samą paszą, którą podawano bydłu domowemu. MBM wprowadzono także do żywności dla kotów. Trzymane w niewoli dzikie zwierzęta z rodziny kotowatych

(*Felidae*) najprawdopodobniej narażone były na zachorowanie po spożyciu głów lub kręgosłupów bydła chorego na BSE. Mogły one zawierać tkanki OUN o wysokim potencjale zakaźnym. Pogląd ten popierają wyniki badań nad eksperymentalnym przenoszeniem BSE na bydło, owce, kozy, norki i myszy na drodze spożycia materiału zawierającego mózg (Bradley, 1996) oraz inne badania eksperymentalne (Taylor, Woodgate i Atkinson, 1995; Taylor i wsp. 1997). Wilesmith i wsp. (1988) oraz Wilesmith, Ryan i Atkinson (1991) wysunęli trzy hipotezy pochodzenia BSE. Według pierwszej BSE jest zmutowaną formą scrapie. Nie została ona jedna poparta wynikami badań epidemiologicznych. Badania dowodziły teorii o wspólnym źródle zakażenia a nie szerzeniu się epidemii. Według drugiej, czynnik etiologiczny mógłby być podobny do tego, który wywołuje scrapie u owiec (scrapie-like agent). Ponieważ owce uważa się za rezerwuuar zakażeń TSE teoria ta wydaje się możliwa do zaakceptowania. Trzecia teoria głosi, że BSE rozwija się w wyniku zakażenia czynnikiem zaadaptowanym u bydła a pochodzącym od czynnika wywołującego scrapie, mimo braku dowodów potwierdzających, że sporadycznie bydło było rezerwuarem. Dwie ostatnie hipotezy były zgodne z wynikami badań epidemiologicznych.

ZWIĄZKI MIĘDZY TSE ZWIERZĄT I LUDZI

Mimo, że przed 1985 r. rozpoznano TSE u mężczyzny i kilku gatunków zwierząt (owce, kozy, jelenie, norki) brakowało dowodów na jakikolwiek związek epidemiologiczny między chorobą występującą wśród zwierząt i występującą u ludzi oraz *vice versa*. Jednakże, w pierwszych dniach epidemii BSE rozważano możliwość, że ryzyko zakażenia ludzi od bydła chorego na BSE może różnić się od ryzyka od owiec chorych na scrapie. Częściowo wynikało to z faktu, że zakaźność tkanek bydlęcych może być większa od tkanek owiec chorych na scrapie, a częściowo, że czynnik wywołujący BSE może mieć innych gospodarzy, różnych niż czynnik wywołujący scrapie. Przypuszczano, że czynnik wywołujący BSE może wywołać chorobę u ludzi mimo, że aż do 1995–1996 r. nie było dowodów, że jest to rzeczywiście ludzki patogen.

RYZIKO ZAKAŻENIA LUDZI CHOROBA BSE

W kwietniu 1988 r. rząd Wielkiej Brytanii powołał Grupę Roboczą (The Working Party) w celu przeanalizowania znaczenia BSE w odniesieniu do zagrożenia zdrowia zwierząt i ludzi, a także sporządzenia listy niezbędnych działań. W lutym 1989 r. po przeprowadzonej analizie Grupa ta przedstawiła tymczasowe zalecenia (Report, 1989). W okresie od czerwca 1988 do lutego 1989 rząd Wielkiej Brytanii objął zachorowania na BSE obowiązkiem zgłaszania, zakazał stosowania białka pochodzącego od przeżuwaczy w paszy dla nich przeznaczonej (głównie na podstawie wyników badań wyżej wymienionych) a także wprowadził obowiązkowy ubój i niszczenie bydła z podejrzeniem klinicznym BSE oraz politykę wyrównywania strat (jako wynik zalecenia Grupy Roboczej). Mózgi zwierząt musiały być badane w kierunku BSE.

Zasadniczą kwestią była ochrona zdrowia publicznego przed ryzykiem narażenia na czynnik wywołujący BSE, który mógł być obecny w żywności na skutek użycia do jej produkcji tkanek pochodzących od bydła znajdującego się w okresie wylęgania BSE. Grupa Robocza nie zaleciła specyficznych działań w tym kierunku. Jednakże w listopadzie 1989 r. wprowadzono zakaz stosowania do produkcji żywności bydlęcych od-

padów poubojowych (specified bovine offals ban, SBO). Odpady, które obowiązkowo miały być wykluczone z ludzkiego łańcucha pokarmowego wybrano na podstawie wiedzy o patogenezie scrapie kóz i owiec rasy Suffolk (Hadlow i wsp., 1980, 1982). Należały tu: mózg, rdzeń kręgowy, migdałki, grasicę oraz jelito od dwunastnicy do odbytnicy włącznie. Założono eliminowanie z łańcucha pokarmowego ludzi, tkanek, które wykazywały największą zakaźność. Niezbędne jednak było dokładne poznanie epidemiologii BSE. W tym celu przeprowadzono serie badań nad transmisją BSE polegających na wprowadzeniu około 50 tkanek, pochodzących od bydła chorego na BSE, wrażliwym myszom. Grupa Robocza zaleciła także utworzenie Komitetu Konsultacyjnego ds. Badań (Consultative Committee on Research – The Tyrrell Committee). Później, w 1990 r. Komitet ten przekształcił się w Komitet Doradczy ds. Encefalopatii Gąbczastej (Spongiform Encephalopathy Advisory Committee, SEAC). SEAC odegrał najważniejszą rolę w wydarzeniach, które doprowadziły do ogłoszenia w 1996 r. zachorowania na vCJD (patrz dalej).

CZYNNIKI I SZCZEPY POWODUJĄCE TSE

Podobnie jak tradycyjne czynniki mikrobiologiczne, także te wywołujące TSE występują w postaci licznych szczepów różniących się cechami biologicznymi. Różnice te można uwidocznić typując szczepy na myszach laboratoryjnych i porównując długość okresu wylęgania oraz obraz zmian neuropatologicznych ze znanym szczepem. Okazało się, że czynnik wywołujący BSE różni się od wszystkich znanych szczepów scrapie. Typując szczepy izolowane od kotów domowych chorych na FSE, od antylop niali i kudu wielkiej z TSE, a także od owiec, kóz i świń doświadczalnie zakażonych BSE nie wykazano różnic między tymi szczepami a szczepami powodującymi BSE bydła (Bruce i wsp. 1994).

Stanowiło to poważne wyzwanie dla szeroko rozpowszechnionej prionowej teorii struktury czynników zakaźnych, według której czynnikiem tym jest zakaźne białko prionowe – PrP. Stwierdzono, że szczepy uzyskane od każdego z badanych gatunków różnią się sekwencją aminokwasową białka PrP. Nasuwa się pytanie, w jaki sposób białka różniące się sekwencją aminokwasową wywołują identyczny efekt fenotypowy u myszy? Sformułowano hipotezę, potwierdzoną w badaniach, że białko prionowe w zależności od przyjętej formy konformacyjnej może wywoływać różny efekt biologiczny i fenotypowy. Także białka o różnej sekwencji aminokwasowej mogą przyjmować podobną formę konformacyjną. Białka te mogą wpływać na zmianę prawidłowej formy konformacyjnej białka PrP^C w organizmie osobnika zakażonego, na formę patologiczną PrP^{Sc}. Dzieje się tak nawet jeśli forma patologiczna białka pochodziła od zwierzęcia należącego do innego gatunku.

Konieczne jest ostateczne sformułowanie hipotezy dotyczącej struktury patogenu (Schreuder, 1994). Niektórzy sądzą, że jest to virino – mały, niezidentyfikowany kwas nukleinowy chroniony przez białko prionowe. Inni uważają, że jest to niekonwencjonalny wirus. Hipoteza virino dostarcza prostego wytłumaczenia za pomocą powszechnie przyjętych praw biologii molekularnej sposobu przenoszenia informacji o strukturze aminokwasowej białka przez kwasy nukleinowe (pozostające do wykrycia).

GATUNKI WRAŻLIWE NA ZAKAŻENIE BSE

W tabeli I zebrano gatunki wrażliwe na zakażenie w warunkach naturalnych i doświadczalnych czynnikiem wywołującym BSE.

Tabela I. Gatunki zwierząt wrażliwe na zakażenie czynnikiem wywołującym BSE

Gatunki wrażliwe na zakażenie czynnikiem wywołującym BSE						
	Naczelne (<i>Primates</i>)	Przeżuwacze (<i>Ruminantia</i>)	Kotowate (<i>Felidae</i>)	Łasicowate (<i>Mustelidae</i>)	Gryzonie (<i>Rodentia</i>)	Inne parzys- tokopytne
Warunki naturalne	Człowiek Lemur? Małpy rhesus?	Bydło Antylopy: Niala Gemsbok Kudu wielkie Arabian oryx Eland <i>Oryx dammah</i> Ankole <i>Bison bison</i>	Kot domowy Puma Gepard Ocelot Tygrys Lew			
Warunki doświadczalne	Małpy: Marmozeta Makaki Saimiri (małpa amery- kańska)* Kapucynka* Lemury?	Owce Bydło Kozy		Norka	Myszy	Świnie
			Uwaga: Chomiki i kurczaki – po śródskórnym podaniu czynnika nie rozwinęły choroby Kurczaki - po podaniu doustnym nie rozwinęły choroby			

* Dane niepublikowane; dzięki uprzejmości CJ Gibbs Jnr.

WYKRYWANIE ZAKAŻONYCH ZWIERZĄT

Obecnie brak jest testu, który można byłoby stosować w praktyce szybkiego (przyżyciowego) wykrywania zakażonych zwierząt. Jedynym sposobem jest wykonanie próby biologicznej na wrażliwych zwierzętach co może trwać lata. Stosowane są testy wykrywające PrP^{Sc} (swoistą dla choroby postać białka prionu) u owiec i bydła. U bydła w przebiegu naturalnego zakażenia żadna z tkanek obwodowych nie wykazuje zakaźności. Badanie tkanki OUN wykonuje się *post mortem* (Moynagh i Schimmel, 1999).

W badaniu owiec stosuje się testy wykrywające obecność PrP w migdałkach (Schreuder i wsp. 1996) i trzeciej powiece (nictitating membrane) (O'Rourke i wsp. 1998).

BSE U BYDŁA

BSE można wywołać doświadczalnie w wyniku parenteralnego lub doustnego podania materiału zawierającego wysoce zakaźny mózg.

NATURALNY PRZEBIEG BSE

BSE występuje głównie u dorosłych osobników bydła mlecznego ponieważ głównie bydło mleczne przeznaczone do hodowli karmiono wysoko skoncentrowanymi paszami

zawierającymi MBM. Hodowano je dostatecznie długo by choroba zmanifestowała się klinicznie i możliwe było określenie okresu wylęgania. Wydaje się, że ogólnie bydło jest wrażliwe na zakażenie. W praktyce większość zachorowań dotyczy bydła rasy Holstein Friesians lub ich krzyżówek ze względu na liczebną przewagę tej rasy w strukturze bydła mlecznego krajów dotkniętych chorobą. Jak dotąd najczęściej zachorowań wystąpiło w Wielkiej Brytanii (około 180 000). Liczba przypadków zgłoszona w innych krajach wynosi około 1 500 (MAFF, informacja własna).

Rozmieszczenie geograficzne

Początkowo występowanie BSE ograniczone było do terenu Wielkiej Brytanii. W miarę rozwoju sytuacji zachorowania zgłaszano z innych krajów Wspólnoty Europejskiej (kraje Beneluksu, Dania, Francja, Irlandia, Portugalia, Liechtenstein) i Szwajcarii. Skutkowało to nowym podejściem do problemu BSE w zakresie ochrony zdrowia publicznego i ochrony zwierząt. Pojedyncze przypadki zachorowań pojawiły się w odległych częściach świata – Kanadzie, Wyspach Falklandzkich, Sułtanacie Omanu a także w Europie – w wyniku importu z Wielkiej Brytanii zakażonego bydła mlecznego lub bydła przeznaczonych do hodowli.

Zakaźność tkanek

W odróżnieniu od scrapie u owiec wykazano, że w przebiegu naturalnego zakażenia zakaźność ograniczona jest do mózgu, rdzenia kręgowego i siatkówki (Bradley, 1999). Około 50 innych tkanek, które poddano próbie biologicznej na myszach, nie wykazywało zakaźności (Bradley, 1996b, MAFF, 2000).

Nasienie i zarodki

Nie wykryto zakaźności zarówno w tkankach narządów rozrodczych męskich jak i żeńskich, łożysku, nasieniu lub zarodkach (Bradley 1996a). Doświadczalnie uzyskane zarodki od krów zakażonych BSE (nie stosowane w praktyce) nie przenosiły zakażenia na otrzymujące je jałówki. Także cielęta wyhodowane w ten sposób, hodowane siedem lat nie rozwinęły objawów BSE. Należy podkreślić, że badanie jeszcze się nie zakończyło – przewidywany termin zakończenia 2001 r. (Wrathall, 2000).

Artykuły spożywcze

W trakcie naturalnego przebiegu BSE, poza tkankami układu nerwowego wymienionymi powyżej, żadna z około 50 badanych tkanek uzyskanych od bydła z objawami klinicznymi i potwierdzonym BSE, nie wykazywała zakaźności w próbie biologicznej na myszach (Bradley 1996b, 1999; MAFF 2000). Nie wykazano również zakaźności tłuszczu pozyskiwanego z odpadów zwierzęcych zawierającego mózgi zwierząt chorych na BSE, zarówno przed jak i po filtracji (Taylor, Woodgate, Atkinson 1995; Taylor i in. 1997).

BSE WYWOŁANE DOŚWIADCZALNIE

Ponieważ nie jest możliwa identyfikacja bydła znajdującego się w okresie wylęgania BSE, patogenезę choroby można było zbadać tylko doświadczalnie. Badanie przepro-

wadzono na 4 miesięcznych cielętach a polegało na doustnym podaniu materiału zawierającego mózg zwierząt chorych na BSE. Równolegle prowadzono badania mające na celu określenie minimalnej dawki zakażającej po podaniu doustnym oraz określenie zapadalność (attack rate). Wyniki tych badań przedstawiono poniżej.

Patogeneza

W badaniu grupę narażoną stanowiło 30 cieląt, którym podano 100 g mózgu chorych na BSE zwierząt (Wells i wsp. 1996). Grupę kontrolną stanowiło 10 cieląt. W 6 miesiącu życia (2 miesiące po narażeniu) i następnie w odstępach 4 miesięcznych, dokonywano uboju 3 cieląt z grupy narażonej i z każdego pobierano próbki około 44 tkanek. W tym samym czasie dokonywano uboju jednego zwierzęcia z grupy kontrolnej i również pobierano próbki tkanek. Pobrane tkanki wszczepiano wrażliwym myszom domózgowo. Myszy obserwowano klinicznie a mózgi badano w chwili ich śmierci naturalnej lub po zabiciu (Wells i wsp. 1998).

Tabela II

Żadna z tkanek pobranych po dwóch miesiącach od podania cielętom zakażonego mózgu nie wykazywała zakaźności. Pierwsze objawy kliniczne obserwowano w 35 miesiącu życia, w tym momencie nie dokonano uboju zwierząt. Część dystalna jelita cienkiego wykazywała stałą zakaźność od 10 do 16 miesiąca i ponownie od 32 miesiąca od rozpoczęcia doświadczenia. Tylko tkanki i zwoje nerwowe wykazywały zakaźność poczynając od 32 miesiąca doświadczenia (trzy miesiące przed wystąpieniem objawów klinicznych). Wyniki zebrano w tabeli II.

Tabela II. Objawy kliniczne, patologia mózgu i zakaźność tkanek w trakcie badania patogenezy BSE wywołanego doświadczalnie u bydła, według miesięcy od zakażenia

OBJAWY KLINICZNE, PATOLOGIA MÓZGU I ZAKAŹNOŚĆ TKANEK W TRAKCIE BADANIA PATOGENEZY BSE WYWOŁANEGO DOŚWIADCZALNIE U BYDŁA W/G MIESIĘCY OD ZAKAŻENIA

	Przedziały (miesiące po ekspozycji)											
	2	6	10	14	18	22	26	32	35*	36	38	40
Objawy kliniczne									■	■	■	■
Patologia mózgu									■	■	■	■
Jelito cienkie cz. dystalna		■	■	■	■	■			■	■	■	■
Rdzeń przedłużony								■	■	■	■	■
Rdzeń kręgowy								■	■	■	■	■
Zwoje grzbietowe								■	■	■	■	■
Zwój n. trójdzielny								■	■	■	■	■
Kora czołowa											■	■
Szpiłk kostny											■	■

*W 35 m-cu. po ekspozycji nie ubito zwierząt, moment pojawienia się objawów u pozostałych zwierząt

Uwaga: niektóre badania w trakcie

Dziękuję uprzejmości G A H Wells
I S A C Hawkins, wrzesień 2000

Na podstawie przeprowadzonego badania można wysunąć wniosek, że w trakcie okresu wylęgania doświadczalnie wywołanego BSE, rozmieszczenie tkanek wykazujących zakaźność jest bardziej ograniczone niż rozmieszczenie takich tkanek w naturalnym przebiegu scrapie u owiec rasy Suffolk (Hadlow i wsp. 1982). Ponadto, poza końcowym odcinkiem jelita cienkiego, nie można wykazać zakaźności innych tkanek na trzy miesiące przed wystąpieniem objawów chorobowych. Aktualnie prowadzone jest badanie transmisji materiału zakaźnego pochodzącego z tego samego źródła z wykorzystaniem bydła. W ten sposób wyklucza się barierę gatunkową i podnosi czułość stosowanego testu. W chwili obecnej (wrzesień 2000) żadna z badanych tkanek, która dała wynik ujemny w próbie biologicznej na myszach nie dała wyniku dodatniego w próbie z wykorzystaniem bydła choć badanie jeszcze się nie zakończyło (S.A.C. Hawkins, informacja własna).

Minimalna dawka zakażająca po podaniu doustnym i zapadalność epidemiczna

Badanie objęło cztery grupy cieląt w wieku 4 miesięcy, po 10 zwierząt w grupie. Podano im mózg pobrany od bydła chorego na BSE odpowiednio: trzykrotnie 100 g, jeden raz 100 g, jeden raz 10 g i jeden raz 1 g. Cielęta obserwowano do chwili wystąpienia objawów klinicznych. Następnie dokonywano uboju i badano mózgi na obecność TSE. Cielęta we wszystkich grupach rozwijały objawy kliniczne i patologiczne BSE (Bradley 1997a, Collee i Bradley 1997). Można wnioskować, że 1g mózgu pochodzącego od bydła chorego na BSE może zawierać dawkę BSE zakażającą 4 miesięczne cielęta. Ma to istotne znaczenie dla celów nadzoru weterynaryjnego. Po pierwsze, ilość mózgu mniejsza niż 1 g może być zakaźna (prowadzone są badania w celu potwierdzenia tej hipotezy) i po drugie, potwierdza to pogląd, że zanieczyszczenie diety przeżuwaczy niewielką ilością pokarmu lub składników zawierających MBM przeznaczonych dla nieprzeżuwaczy (Wilesmith, 1996, 1998) mogło być przyczyną większości przypadków BSE przed wprowadzeniem zakazu skarmiania przeżuwaczy białkiem pochodzącym od przeżuwaczy.

Porównawcze próby biologiczne

Przeprowadzono badanie oceniające przydatności bydła i myszy do wykrywania zakaźności materiału. Porównywano zakaźność mózgu, śledziony i grupy węzłów chłonnych bydła i myszy po podaniu badanego materiału domózgowo. Tkanki do wszczepiania uzyskano od bydła z potwierdzonym BSE. Poziom zakaźności określono tylko w mózgu. Wykazano zakaźność mózgowi zarówno myszy i bydła ale ani w śledzionie ani w węzłach chłonnych badanych zwierząt nie stwierdzono czynnika zakaźnego (badanie nieukończono). Na podstawie poziomu zakaźności w mózgu stwierdzono, że bydło było 500 razy bardziej przydatne w wykrywaniu zakaźności (G.A.H. Wells i S.A.C. Hawkins, informacja własna).

Potwierdza to hipotezę, że wykonując próbę biologiczną z wykorzystaniem bydła można wykryć niższy poziom zakaźności w porównaniu do próby przeprowadzonej na myszach. Jest to również zgodne z poglądem, że patogenezą BSE bydła różni się od scrapie owiec. Śledziona i węzły chłonne wydają się być pozbawione zakaźności w okresie wylęgania i objawów klinicznych wywołanej doświadczalnie choroby. Na tej podstawie można wysunąć wniosek, że tkanki te, w sposób niezamierzony dodane do

żywności przeznaczonej dla ludzi lub zanieczyszczające tę żywność, nie stwarzają ryzyka dla zdrowia publicznego. Spożycie zaś, niezależnie czy zamierzone czy przypadkowe tkanek OUN pochodzących od zwierząt w okresie wylęgania lub z objawami klinicznymi może stwarzać duże ryzyko zakażenia.

ŚRODKI ZAPOBIEGAWCZE

Zasadą ochrony zwierząt i ludzi jest eliminacja lub redukcja narażenia na czynnik zakaźny do poziomu, kiedy zakażenie i choroba nie mogą już wystąpić. Zapobieganie omówione zostanie osobno dla ludzi i zwierząt. Ważne jest, by w przypadku istniejącego zagrożenia środki zapobiegawcze były wprowadzone tak szybko jak to możliwe. Efekty działania środków zapobiegających zakażeniom zwierząt, które mogą pojawić się po pewnym czasie również można traktować jak długoterminowe środki zapobiegające zakażeniom ludzi.

DZIAŁANIA W ZAKRESIE OCHRONY ZDROWIA PUBLICZNEGO

Wprowadzono dwa zasadnicze środki ochronne – obowiązkowy ubój, zniszczenie chorych zwierząt z wyrównywaniem strat ekonomicznych oraz usuwanie i niszczenie tkanek potencjalnie zakaźnych pochodzących z martwych zwierząt – regulację dotyczącą niszczenia bydlęcych odpadów poubojowych (specified bovine offals ban, SBO).

Ubój, polityka wyrównywania strat i niszczenie klinicznie podejrzanych lub chorych zwierząt

Działania te wprowadzono w Wielkiej Brytanii w czerwcu 1988 r. W 1990 r. podobne zasady działania wprowadziły Unia Europejska i Szwajcaria. Skuteczność tych działań zależy od wiedzy o objawach klinicznych BSE osób pracujących z bydłem i ich odpowiedzialności. Wymagało to wprowadzenia ciągłej edukacji i ustanowienia realnej polityki wyrównywania poniesionych strat. Jednocześnie należało wyeliminować czynniki wpływające ujemnie, takie jak wysokie opłaty za oficjalną diagnozę, zniszczenie lub nieuzasadnione, obowiązkowe wybicie całego stada. Preferowanym sposobem niszczenia zmarłych zwierząt jest ich spalanie, choć w niektórych krajach są one grzebane.

Postępowanie z bydlęcymi odpadami poubojowymi (SBO)

Obowiązujące zasady postępowania z bydlęcymi odpadami poubojowymi wprowadzono w Wielkiej Brytanii w listopadzie 1989 r. W krajach Unii Europejskiej przyjęto je w październiku 2000 r. Niektóre kraje, w tym Szwajcaria, przyjęły te zasady zaraz po pojawieniu się pierwszych zachorowań na BSE. Początkowo SBO obejmowały 6 rodzajów tkanek pochodzących od zwierząt starszych niż 6 miesięcy, które musiały być usunięte i zniszczone. Należały tu mózg, rdzeń przedłużony, grasicę, migdałki, śledzionę i jelito od dwunastnicy do odbytnicy włącznie. Listę tę oparto o wiedzę o scrapie owiec i kóz. W miarę napływu informacji i wyników analizy ryzyka zakażenia listę uzupełniono (Tabela III). Od września 1990 r., po doświadczalnym przeniesieniu zakażenia BSE na świnie, SBO rozszerzono na wszystkie gatunki zwierząt i ptaków. Regulacja nie była w pełni przestrzegana aż do roku 1995, kiedy to powołano Meat Hygiene Service.

DZIAŁANIA W ZAKRESIE OCHRONY ZDROWIA ZWIERZĄT

W Wielkiej Brytanii podjęto szeroki zakres działań zmierzających do ochrony zdrowia zwierząt. Obejmowały one: izolację krów rodzących podejrzanych o zakażenie BSE przez 72 godziny po porodzie, zniszczenie łożyska, zakażonych materiałów, budynków (od 1988 r.), SBO i wprowadzone poprawki, regulację dotyczącą określonych materiałów pochodzenia bydłowego (specified bovine materials ban, SBM), regulację dotyczącą materiałów o wysokim ryzyku (specified risk material ban, SRM). Działania te zmniejszały ryzyko TSE w produktach pochodzenia zwierzęcego, jednak najistotniejszym działaniem był zakaz skarmiania przeżuwaczy i jego modyfikacje.

Zakaz skarmiania przeżuwaczy

Zakaz skarmiania przeżuwaczy białkiem pochodzącym od przeżuwaczy wprowadzono w Wielkiej Brytanii od lipca 1988 r. Również inne kraje wprowadziły podobny zakaz od roku 1990, choć były i takie, które mimo wystąpienia przypadków BSE takiej regulacji nie uwzględniły. W krajach Wspólnoty Europejskiej począwszy od 1994 r. wprowadzono zakaz mechanicznego odzyskiwania mięsa od przeżuwaczy (mechanically recovered meat, MRM). Po ogłoszeniu w Wielkiej Brytanii zachorowania na vCJD w 1996 r., kraj ten wprowadził zakaz skarmiania zwierząt hodowanych na mięso, obejmujący także konie i ryby, produktami zawierającymi MBM. Sądzi się, że jeśli wprowadzony początkowo w 1988 r. zakaz byłby całkowicie przestrzegany to zachorowania na BSE w Wielkiej Brytanii byłyby obecnie całkowicie wyeliminowane. W dalszej części przedstawiono luki w działaniu zakazów.

Nieszczelności w przestrzeganiu zakazów

Służby weterynaryjne Wielkiej Brytanii wykryły szereg braków w działaniu i wykonywaniu obowiązujących zakazów, które stworzyły niebezpieczeństwo dla zdrowia zwierząt, a przez to również dla ludzi. Odpady poubojowe, które powinny być całkowicie zniszczone w rzeczywistości przesyłano do przetwarzania. W ten sposób, w postaci MBM, włączano je do łańcucha pokarmowego zwierząt. W tym czasie nie wprowadzono nowych norm przetwarzania żywności, w wyniku których żywność pozbawiona byłaby zakaźności. Ponadto, mimo że w niektórych zakładach, tak jak tego wymagało prawo, usuwano z czaszek mózgi, to w czaszce poddawanej tradycyjnemu przetwarzaniu pozostawały resztki, które również stwarzały ryzyko zakażenia BSE. Sytuację tę poprawiono rozszerzając pojęcie odpadów poubojowych na całe czaszki oraz wprowadzając obowiązek usuwania całych gałek ocznych – siatkówka należy do tkanek o wysokiej zakaźności. W marcu 1996 r., po ogłoszeniu zachorowania na vCJD, zakazem przetwarzania objęto całe głowy (tabela III).

Wykazano również nieszczelności w działaniu zakazu skarmiania przeżuwaczy. Początkowo zakładano, że szybko doszłoby do wyczerpania zapasów paszy dla zwierząt wyprodukowanej z wykorzystaniem białka przeżuwaczy. W ten sposób liczba cieląt, które rozwinęłyby BSE po wprowadzeniu zakazu uległaby znacznemu zmniejszeniu. Jednak spośród około 180 000 zachorowań na BSE ponad 40 000 stanowiły cielęta urodzone po wprowadzeniu zakazu. Ważnym problemem było również wykrycie zanieczyszczenia paszy przeznaczonej dla przeżuwaczy mączką mięsno-kostną przeznaczoną dla innych zwierząt (Wilesmith, 1998).

Tabela III. Działania podjęte w celu ochrony zdrowia publicznego w Wielkiej Brytanii

Bezpośrednia ochrona zdrowia publicznego przed BSE (Wielka Brytania)			
Data	Bydło zdrowe klinicznie		Bydło podejrzane o BSE
Przed BSE	SBO nie dotyczy produktów mięsnych poddawanych obróbce termicznej (wyjątek: grasica)		Zgłaszanie, obowiązkowy ubój i niszczenie
Czerwiec 1988			
Sierpień 1988	Bydło > 6 mż	Bydło < 6 mż	
Listopad 1989	Wprowadzone SBO		
Listopad 1994			
Sierpień 1995	Zakaz przetwarzania czaszek		
Grudzień 1995	Zakaz mechanicznego pozyskiwania mięsa z okolicy rdzenia (MRM)		
Marzec 1996	Zakaz hodowli bydła > 30 mż (OTMS)		
	Zakaz przetwarzania głów		
	Zakaz eksportu żywego bydła i produktów z wyjątkiem mleka ze względu na zaufanie konsumentów		
Grudzień 1997	Zakaz przetwarzania kości		
Sierpień 1999	Zakaz eksportu mięsa bez kości (z wyjątkiem Francji) – wprowadzenie DBES		
Grudzień 1999	Zniesienie zakazu przetwarzania kości		
Lipiec 2000		Zniesienie zakazu przetwarzania jelita cienkiego lub grasicy cieląt	
Bariera gatunkowa			
Człowiek			

Zanieczyszczenie paszy przeznaczonej dla przeżuwaczy

Dwa, niezależnie przeprowadzone badania analizowały zagadnienie zanieczyszczenia paszy przeżuwaczy. Badania epidemiologiczne (Wilesmith, 1998) wykryło rosnącą zapadalność na BSE w regionach o dużej liczbie hodowanych świń i drobiu podczas, gdy w innych zapadalność spadała. Wykazano istnienie wysokiego ryzyka zanieczyszczenia paszy dla przeżuwaczy w zakładach przygotowujących paszę dla przeżuwaczy i nieprzeżuwaczy, które zlokalizowane były w regionach o dużej liczbie hodowanych świń i drobiu. Do zanieczyszczenia mogło dochodzić poprzez mieszała, silosy lub inne wyposażenie zakładów a także na fermach hodowlanych. Wyniki te były zgodne z wynikami badania zapadalności epidemicznej, które wykazały, że 1 g tkanki mózgowej wystarcza do zakażenia BSE po podaniu doustnym (Bradley, 1997b, Collee i Bradley 1997, patrz wyżej). Dawka zakaźna mogła być zawarta w nawet mniejszej ilości wysuszonej tkanki mózgowej, zwłaszcza jeśli proces przetwarzania nieskutecznie inaktyw-

wał potencjalną zakaźność. Tak długo jak proces przygotowania obu rodzajów paszy prowadzono za pomocą tych samych narzędzi nie można było wyeliminować tego rodzaju zanieczyszczenia. Dało to podstawę SEAC do wprowadzenia w marcu 1996 r. zalecenia o wyłączeniu z pasz, przeznaczonych dla zwierząt hodowanych na mięso, mączek mięsno-kostnych pochodzących od ssaków.

Mięso odzyskiwane mechanicznie (mechanically recovered meat, MRM)

Resztki mięsa pozostające na kościach usuniętych z ciał zwierząt usuwane są mechanicznie za pomocą wysokiego ciśnienia. Procesowi temu nie poddawano czaszek zwierząt (potencjalnie zawierających materiał zakaźny wywołujący BSE) ze względu na możliwość mechanicznego uszkodzenia maszyn przez zęby. Mięso odzyskiwano jednak z kręgosłupów. W ten sposób istniała możliwość, że w mięsie tym mogły się znaleźć zwoje grzbietowe, które w badaniu patogenezy BSE wykazywały wysoką zakaźność (Tabela II), pozostałości nie w pełni usuniętego z ciał zwierząt rdzenia kręgowego oraz fragmenty nerwów obwodowych. Pomimo, że w patogenezie BSE wywołanej doświadczalnie szpik kostny zawarty w mostku w pewnym okresie objawów klinicznych wykazywał zakaźność, ogólnie nie jest uważany za tkankę stwarzającą ryzyko zakażenia (Wells i wsp. 1999 – pełna interpretacja wyników badania). Mięso odzyskane mechanicznie używane jest do produkcji pasztetów i mięsa mielonego. Zidentyfikowanie MRM jako potencjalnego źródła zakażenia skutkowało wydaniem przez SEAC zalecenia o zaprzestaniu odzyskiwania mięsa z kręgosłupów wołowych (tabela III).

CJD

Do roku 1995 nie obserwowano wzrostu zapadalności na CJD, który można było powiązać z narażeniem na BSE w czasie epidemii BSE. Sytuacja uległa zmianie w okresie 1995 – marzec 1996 r.

Wariant CJD (vCJD)

Jest to nowa forma CJD, dotyczące głównie młodych dorosłych (średni wiek 26 lat w porównaniu do 65 w przypadku sporadycznej CJD). Cechuje się wyraźnymi objawami neurologicznymi, długim trwaniem choroby (średnio 13 miesięcy w porównaniu do 5 miesięcy w przypadku CJD) i charakterystyczną neuropatologią (Ironsides, 1999). Objawy obejmują zaburzenia psychiczne lub czucia. W przebiegu choroby pojawiają się ataksja, drgawki kloniczne mięśni i inne zaburzenia ruchowe. Ośpienie rozwija się późno. W obrazie neuropatologicznym dominują liczne, duże, płytki amyloidu zawierające PrP otoczone przez zmiany gąbczaste przypominające układem płatki kwiatu. Zmiany te występują w korze mózgowej i mózdzku (Ironsides, 1999). Wszyscy pacjenci zgłoszeni i zbadani do chwili obecnej są w kodonie 129 genu PrP homozygotami metioninowymi (MM).

Ogłoszenie zachorowania vCJD

Dnia 20 marca 1996 r. Sekretarz Stanu Brytyjskiego Parlamentu ogłosił, że stwierdzono 10 przypadków vCJD (Will i wsp. 1996). Powiedział on, cytując SEAC: „Mimo, że nie ma bezpośredniego dowodu na związek, w obliczu dostępnych danych i braku

wiarygodnej alternatywy, najbardziej prawdopodobnym wyjaśnieniem pojawienia się 10 zachorowań jest narażenie na czynnik wywołujący BSE zanim w 1989 r. wprowadzono zakaz stosowania do produkcji żywności wołowych produktów poubojowych.”

Następstwa

Następstwa tej informacji dla Wielkiej Brytanii były natychmiastowe. Znacząco spadło zaufanie konsumentów do mięsa wołowego i produktów wołowych. Podobne zjawisko obserwowano w całej Europie. Komisja Europejska nakazała Wielkiej Brytanii natychmiastowy zakaz eksportu bydła, mięsa wołowego i produktów wołowych z wyjątkiem mleka, które uważano za bezpieczne i nie stwarzające ryzyka zakażenia BSE. Ustanowiono też warunki zniesienia zakazu. Wymagały one usunięcia podejrzanych zwierząt. Skutkowało to w likwidacji milionów sztuk bydła, które zabito wycofując je z łańcucha pokarmowego ludzi. Zwiększono również środki przeznaczone na badania naukowe.

Związek z BSE

Bruce i wsp. (1997) wykazali, że szczepy wyizolowane z mózgów trzech pacjentów z vCJD nie różniły się od czynnika wywołującego BSE u bydła. Typowanie molekularne dostarczyło dalszych dowodów na bliskie podobieństwo czynników (Collinge i wsp. 1996). Pomimo wyraźnego związku między czynnikami, dokładne źródło zakażenia ludzi pozostaje nieznane.

Rozmieszczenie geograficzne

Do chwili obecnej zachorowania na vCJD wystąpiły tylko w krajach, z których pochodziło bydło chorujące na BSE. Większość zachorowań vCJD (>80) wystąpiła w Wielkiej Brytanii, dwa lub trzy we Francji i jedno w Irlandii.

Badanie kliniczno-kontrolne

Badania kliniczno-kontrolne przeprowadzone w Wielkiej Brytanii przez Dział Nadzoru Epidemiologicznego nad CJD nie wykryły bezpośredniego związku między pojawianiem się jakiegokolwiek formy CJD a rodzajem wykonywanego zawodu, włączając te, które charakteryzują się największym ryzykiem kontaktu z czynnikiem wywołującym TSE. Nie wykazano również związku między pojawianiem się jakiegokolwiek formy CJD a sposobem żywienia i rodzajem spożywanej żywności. Badania obarczone jednak były błędami – stronniczością przypominania (recall bias) oraz uzyskaniem wyników bliskich uzyskania znamienności statystycznej. Nie udowodniono również występowania podwyższonego ryzyka wystąpienia vCJD związanego z zabiegami chirurgicznymi, przetaczaniem krwi i produktów krwiopochodnych (CJD 1999).

ROLA ŚWIATOWEJ ORGANIZACJI ZDROWIA (WHO)

Rolą WHO jest przekazywanie informacji o TSE, vCJD i BSE do wszystkich krajów członkowskich. WHO, przy współudziale Międzynarodowego Biura ds. Epizootii (OIE) organizuje zebrania robocze, na które zapraszani są lekarze medycyny i weterynarze. Celem spotkań jest wymiana doświadczeń, rozwiązywanie problemów i wymiana infor-

macji. Ustanowiono Centra Regionalne, w których eksperci udzielają porad i pomagają diagnozować zachorowania. WHO zachęca wszystkie kraje świata do wprowadzenia nadzoru epidemiologicznego nad CJD.

Po szeregu konsultacji opublikowano zalecenia i wskazówki dotyczące najważniejszych kwestii. Obejmują one zagadnienia zdrowia publicznego związane z pasażowymi encefalopatiami gąbczastymi ludzi i zwierząt – epidemiologię, wielkość ryzyka, potrzebę prowadzenia badań, kryteria diagnostyczne CJD, różnicowanie CJD, światowy nadzór epidemiologiczny, diagnostykę i leczenie ludzkich TSE, środki zapobiegawcze minimalizujące ryzyko zakażenia związane z procedurami medycznymi, środkami i sprzętem medycznym zawierającym produkty pochodzenia bydłowego oraz procedury dezynfekcji i sterylizacji.

Dwa proste, ale niezmiernie ważne stwierdzenia, opublikowane po ogłoszeniu zachorowania na vCJD w 1996 r. powinny być zapamiętane przez wszystkich zajmujących się zagadnieniem ochrony zdrowia ludzi i zwierząt:

„Żadne części lub produkty pochodzące od zwierząt z objawami TSE nie powinny się znaleźć w łańcuchu pokarmowym (ludzi i zwierząt)” oraz „Żadne państwo nie powinno zezwolić by tkanki, które mogą zawierać czynnik wywołujący BSE zostały włączone w łańcuch pokarmowy (ludzi i zwierząt)” (WHO 1996).

ROLA MIĘDZYNARODOWEGO BIURA EPIZOOTII (OIE)

OIE wniosła bardzo dużo do poznania natury BSE poprzez współpracę z WHO, organizowanie spotkań w Regionach oraz corocznych zjazdów Komitetu Międzynarodowego. OIE uzgodniła z krajami członkowskim zalecenia dotyczące bezpieczeństwa handlu żywym bydłem i produktami bydłowymi. To złożone zagadnienie opublikowano w rozdziale poświęconym BSE w „International Animal Health Code” (OIE 2000a). Drugim istotnym zagadnieniem była aktualizacja technik diagnostycznych, przyjętych przez kraje członkowskie, dotyczących badania i potwierdzania BSE. Opublikowano je w rozdziale o BSE w Instrukcji „Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines” (OIE 2000b).

DECYZJE KOMISJI EUROPEJSKIEJ

Komisja Europejska powołała grupy ekspertów do spraw BSE. Grupy przygotowały formalny raport, który, po wprowadzeniu niezbędnych poprawek przedłożono do akceptacji Komitetowi Naukowemu ds. Nadzoru Weterynaryjnego. Następnym krokiem było przygotowanie projektów rozporządzeń, często w formie Decyzji Komisji. Przygotowano również Dyrektywy i Regulacje. Po uzgodnieniu i akceptacji akty te włączone zostały do ustawodawstwa przez wszystkie kraje członkowskie. Dzięki temu zharmonizowano działania zapobiegawcze. W raporcie Komisji określono protokół diagnostyki laboratoryjnej i potwierdzania zachorowań na BSE i scrapie, który posłużył jako podstawa dla rozdziału poświęconemu BSE w Instrukcji przygotowanej przez OIE (OIE 2000b).

W następstwie kryzysu z 1996 r. Komitety Naukowe uległy rozwiązaniu. W nowo powstałej organizacji zagadnienia związane z TSE rozpatrywał nowy Komitet Naukowy – Scientific Steering Committee (SCC). Tak jak poprzednio, grupy ekspertów przygotowywały raporty o aktualnych problemach, które przedstawiano stworzonym *ad hoc*

Komitetem ds. BSE i TSE zanim trafiły do SSC. SSC publikowało opinie naukowe dotyczące dyskutowanych zagadnień. Jeśli było to konieczne, w odrębnej komórce organizacyjnej, przygotowywano projekty aktów prawnych. Akty te, często po licznych poprawkach powodujących opóźnienie, przedstawiano Krajom Członkowskim do przyjęcia. W ten sposób na przykład, wprowadzono i zharmonizowano regulacje prawne dotyczące pasz i odpadów poubojowych na terenie Unii Europejskiej. Pozwoliło to Krajom Członkowskim na ochronę mieszkańców przed potencjalnym ryzykiem narażenia na zakażenie BSE ze strony innych krajów. Nie udało się zharmonizować działań legislacyjnych dotyczących zakazu eksportu żywego bydła i większości produktów pochodzenia wołowego z Wielkiej Brytanii (i następnie z Portugalii) po wystąpieniu zachorowań na vCJD w 1996r. Kraje Członkowskie na spotkaniu we Florencji uzgodniły dalsze zasady postępowania. Na mocy przyjętych uzgodnień surowe restrykcje stopniowo łagodzone i znoszono. Wkrótce zniesiono całkowicie restrykcje dotyczące nasienia, lekarstw i wołowiny bez kości.

INNE DZIAŁANIA ZAPOBIEGAJĄCE BSE

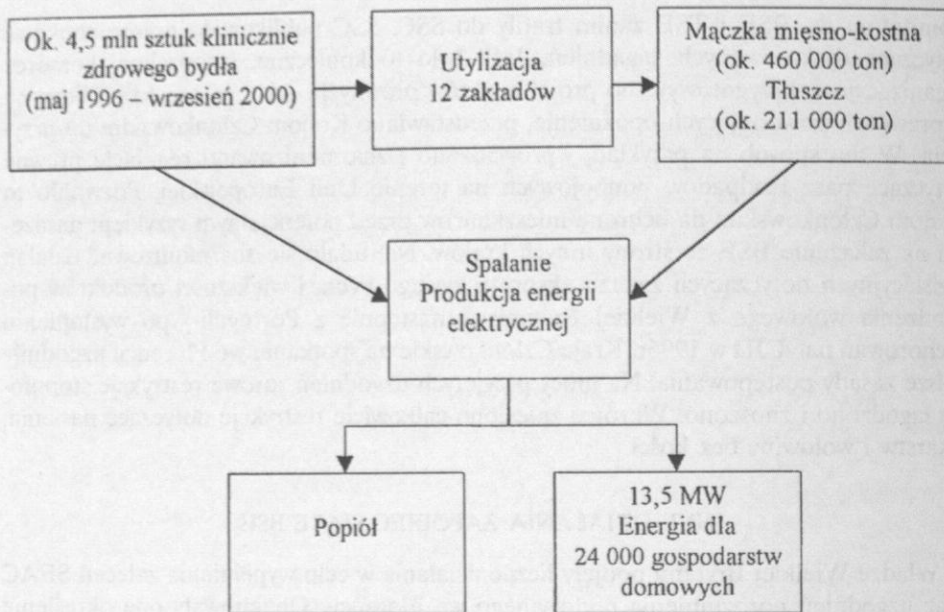
Władze Wielkiej Brytanii podjęły liczne działania w celu wypełnienia zaleceń SEAC oraz uzgodnień porozumienia podpisanego we Florencji. Obejmowały one określenie postępowania ze zwierzętami starszymi niż 30 miesięcy (over thirty months scheme, OTMS), wycofywanie ze stad zwierząt podejrzanych o BSE, całkowity zakaz skarmiania zwierząt hodowlanych, włączając konie i ryby, paszą zawierającą mączki mięsno-kostne.

PLAN POSTĘPOWANIA ZE ZWIERZĘTAMI STARSZYMI NIŻ 30 MIESIĘCY

Dnia 20 marca 1996 r. SEAC zalecił m. in. aby pod nadzorem służby Meat Hygiene Service mięso uzyskane od bydła starszego niż 30 miesięcy było pozbawiane kości i wszystkich widocznych tkanek nerwowych w miejscach licencjonowanych. Odpady należało klasyfikować jako SBM.

Ze względu na trudności z wykonywaniem tych zaleceń i zaleceń Komisji Europejskiej wprowadzono nowy plan. Polegał on na ubiciu, zniszczeniu i wypłaceniu właścicielom odszkodowania za bydło starsze niż 30 miesięcy i przeznaczone do spożycia przez ludzi. Z planu wyłączone było w wieku poniżej 40 miesięcy życia pochodzące ze stad uznanych za stwarzające bardzo małe ryzyko BSE. Ponieważ zakłady utylizacyjne nie były w stanie spalić ponad 1 miliona sztuk bydła rocznie, zezwolono na przetworzenie wszystkich części (z wyjątkiem skór przeznaczonych dla przemysłu) na mączkę mięsno-kostną i tłuszcz oraz ich odpowiednie zabezpieczenie i przechowywanie do czasu, kiedy możliwe będzie ich spalanie. Przechowuje się około 500 000 ton tych produktów. Zbudowano elektrownie produkujące energię elektryczną z przechowywanych materiałów. W ten sposób ubite, w pewnym sensie zdrowe zwierzęta, hodowane pierwotnie w celu produkcji mięsa i produktów mięsnych przeznaczonych do spożycia przez człowieka wykorzystywane są do produkcji energii elektrycznej (Rycina 1). Przeznaczony do zniszczenia tłuszcz używany jest jako paliwo do ogrzewania w zakładach utylizacyjnych. Procesy te podlegają ścisłemu nadzorowi.

W ten sposób jako wynik epidemii BSE, oprócz bydła podejrzanego o zakażenie zniszczono około 6 milionów sztuk bydła, które przeznaczone by do spożycia.



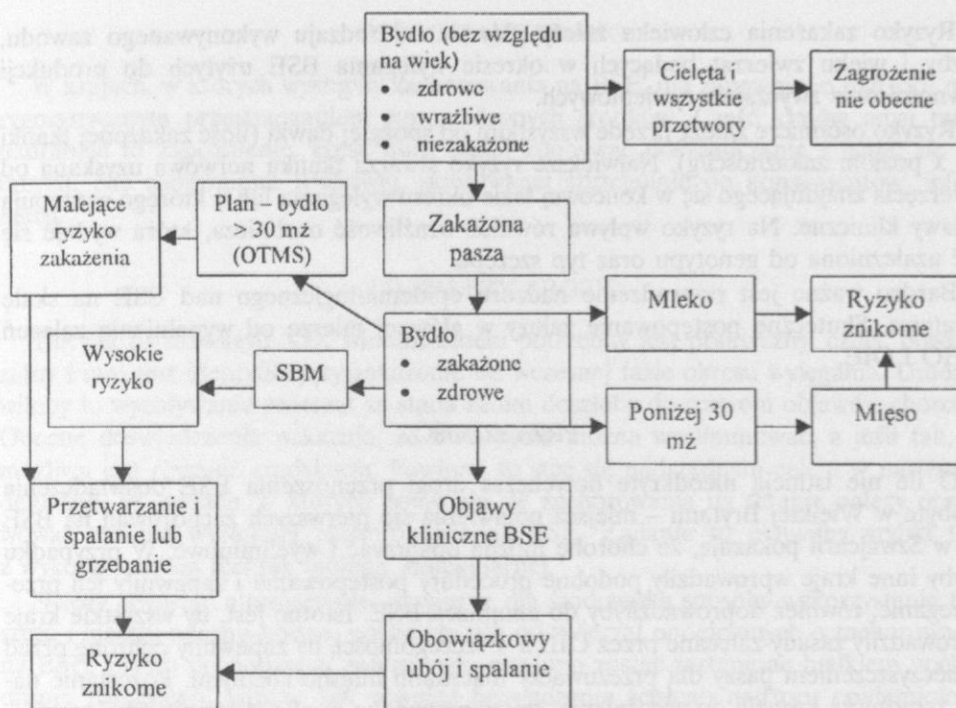
Ryc. 1. Schemat postępowania z bydłem starszym niż 30 m.ż.

USUWANIE SZTUK PODEJRZANYCH O BSE ZE STADA

Zgodnie z porozumieniem zawartym we Florencji bydło będące w tym samym wieku jak to, u którego doszło do rozwinięcia objawów choroby musiały zostać usunięte ze stada (selective cohort cull). Obowiązek uboju i zniszczenia objął około 80 000 sztuk bydła. Początkowo dobrowolnie, a następnie obowiązkowo, dokonywano uboju cieląt urodzonych przez krowy, które zachorowały na BSE oraz cieląt urodzonych po 1 sierpnia 1996 r., tj. dniu, w którym całkowicie zaczął obowiązywać zakaz skarmiania zwierząt mączkami mięsno-kostnymi. Ogółem ubojowi poddano 10 000 sztuk bydła. Przed 20 marca 1996 r. Wielka Brytania eksportowała do krajów Unii Europejskiej około 500 000 sztuk bydła w wieku poniżej 6 miesięcy. Bydło hodowano do czasu osiągnięcia przez nie 6 miesiąca życia. Po wprowadzeniu przez Unię zakazu eksportu bydła z Wielkiej Brytanii wprowadzono plan (Calf Processing Aid Scheme) zagospodarowania obecnej na rynku niepożądanego nadwyżki cieląt. Do 31 lipca 1999 r., kiedy plan przestał obowiązywać, zniszczono niemal 2 miliony sztuk cieląt.

SIEĆ KONTROLI

Na rycinie 2 zebrano informacje o podjętych w Wielkiej Brytanii działaniach zapobiegawczych i wzajemnych powiązaniach, które w przypadku pełnej skuteczności niemal całkowicie redukowały zagrożenia wystąpienia BSE. Należy również mieć na uwadze zmiany w środowisku, które są skutkiem zniszczenia olbrzymiej liczby bydła i odpadów poubojowych, a których ludzie lub zwierzęta nie spożyły przez 12 lat. Dyskusja na ten temat przekracza zakres tego opracowania.



Ryc. 2. Wzajemne zależności występowania BSE u bydła

DOŚWIADCZENIE ZDOBYTE W TRAKCIE EPIDEMII BSE

Niezmiernie istotne jest uwzględnienie w przyszłości doświadczeń zdobytych w trakcie obecnej epidemii BSE. Dotyczą one następujących zagadnień:

- bezpieczeństwo pasz dla zwierząt,
- bezpieczeństwo żywności,
- bezpieczne usuwania odpadów poubojowych i ochrona środowiska naturalnego przed zanieczyszczeniem.

WNIOSKI

Zgodnie z raportami kierowanymi do OIE, występowanie BSE ograniczone jest do terenu Europy. Nie oznacza to jednak, że nie ma ryzyka wystąpienia BSE na innym terenie. Ponieważ kraje, w których potwierdzono BSE, eksportowały zakażone bydło i mączki mięsno-kostne (MBM) niezbędne jest prowadzenie ciągłej analizy ryzyka i nadzoru epidemiologicznego wszędzie tam, gdzie hodowane jest bydło.

W przypadku wystąpienia ryzyka BSE należy stosować odpowiednie środki zapobiegawcze. Ścisłe ich przestrzeganie doprowadzi do eliminacji choroby.

Najważniejsze strategie postępowania obejmują – w celu ochrony zdrowia zwierząt – wprowadzenie zakazu stosowania mączek mięsno-kostnych, i – w celu ochrony zdrowia publicznego politykę uboju i niszczenia bydła podejrzanego klinicznie o zachorowanie oraz odpowiednie przetwarzanie materiałów potencjalnie zakaźnych.

Ryzyko zakażenia człowieka zależy głównie od rodzaju wykonywanego zawodu, liczby i wieku zwierząt będących w okresie wylęgania BSE użytych do produkcji żywności oraz zwyczajów żywieniowych.

Ryzyko osobnicze zależy przede wszystkim od spożytej dawki (ilość zakażonej tkanki (g) x poziom zakaźności/g). Największe ryzyko stwarza tkanka nerwowa uzyskana od zwierzęcia znajdującego się w końcowej fazie okresu wylęgania lub u którego występują objawy kliniczne. Na ryzyko wpływa również wrażliwość osobnicza, która wydaje się być uzależniona od genotypu oraz typ szczepu.

Bardzo ważne jest prowadzenie nadzoru epidemiologicznego nad BSE na skalę światową. Skuteczne postępowanie zależy w głównej mierze od wypełniania zaleceń WHO i OIE.

PRZYSZŁOŚĆ

O ile nie istnieją nieodkryte dotychczas drogi przenoszenia BSE doświadczenia zdobyte w Wielkiej Brytanii – miejsca pojawienia się pierwszych zachorowań na BSE – i w Szwajcarii pokazują, że chorobę można opanować i wyeliminować. W przypadku gdyby inne kraje wprowadziły podobne procedury postępowania i zapewniły ich przestrzeganie, również doprowadziłyby do eliminacji BSE. Istotne jest, by wszystkie kraje wprowadziły zasady zalecane przez OIE a w szczególności, by zapewniły ochronę przed zanieczyszczeniem paszy dla przeżuwaczy mączkami mięsno-kostnymi. Pozostanie nadal zasadniczą kwestią do wyjaśnienia, czy w przypadku wyeliminowania BSE manifestującej się klinicznie wyeliminuje się również zakażenie?

W chwili obecnej nie jest możliwe określenie zakresu i rozmiaru epidemii vCJD, jedynej formy CJD, której wystąpienie powiązane z narażeniem na zakażone produkty pochodzenia zwierzęcego. Dzieje się tak, ponieważ dokładnie nie są znane: źródło zakażenia, dawka zakaźna, zmienna wrażliwość osobnicza i długość okresu wylęgania. Zasadniczą rolę w ochronie zdrowia publicznego odgrywa prowadzenie nadzoru epidemiologicznego. Pojawienie się zachorowania wskazuje na narażenie, do którego mogło dojść w poprzedzających latach lub nawet dziesiątek lat. Możliwa jest transmisja vCJD między ludźmi w wyniku przetaczania krwi lub produktów krwiopochodnych i przeszczepiania narządów. Nie wykluczono możliwości jatrogennego zakażenia poprzez stosowanie narzędzi chirurgicznych, których sterylizacja nie spełniła wymogów dla czynników wywołujących vCJD. Do chwili obecnej nie opisano takich zachorowań ale niektóre kraje podjęły działania minimalizujące potencjalne ryzyko zakażenia.

CO OSIĄGNIĘTO

W trakcie epidemii BSE wiedza o transmisji, sposobach kontroli i nadzoru oraz eliminacji TSE uległa znacznemu pogłębieniu. Dzięki prowadzeniu skutecznego nadzoru epidemiologicznego w krótkim czasie rozpoznano jako nowe choroby – BSE i vCJD. Prowadzone badania epidemiologiczne doprowadziły do identyfikacji wektora szerzenia się BSE – mączek mięsno-kostnych. Określono metody inaktywujące czynniki powodujące TSE a szczególnie BSE. Opisano nieszczelności w przestrzeganiu zakazów, wprowadzono nowe, poprawione regulacje kosztem zwiększenia rozmiarów i czasu trwania epidemii BSE oraz przedłużonego zagrożenia ludzi i zwierząt.

CZEGO ZANIEDBANO

W krajach, w których wystąpiły zachorowania na BSE, nie zapewniono nadzoru nad rygorystycznym przestrzeganiem wprowadzonych środków. Część krajów musi teraz nadrabiać to zapóźnienie, część musi nadal zdobywać doświadczenie i uczyć się od innych. Nie zapewniono właściwej, skierowanej szczególnie do konsumentów, informacji.

CO NALEŻY ZROBIĆ

Tak jak to zauważyli XIX wieczni uczeni potrzebny jest praktyczny, czuły, powtarzalny i tani test identyfikujący zakażenie we wczesnej fazie okresu wylegania. Umożliwiłoby to wycofywanie zwierząt ze stada zanim doszłoby do rozwoju objawów choroby. Obecne doświadczenia wskazują, że BSE była można wyeliminować, a jeśli tak, to możliwa jest również eradykacja. Powinno to stać się nadrzędnym celem w następnej dekadzie. W stadach, w których pojawiają się zachorowania na scrapie należy obserwować czy nie występują zachorowania na BSE. Zadanie to ułatwiłby szybki test z wykorzystaniem technik biologii molekularnej.

Należy stworzyć alternatywne, przyjazne dla środowiska sposoby wykorzystania tłuszczu i mączki mięsno-kostnej pochodzących od zwierząt podejrzanych o zachorowanie na BSE. Białko pochodzenia zwierzęcego powinno zostać zastąpione białkiem pochodzenia roślinnego. Istotne jest również prowadzenie ścisłego nadzoru epidemiologicznego w celu wczesnego wykrywania zachorowań na vCJD w krajach, w których do tej pory nie obserwowano takich zachorowań oraz zmian w zapadalności w krajach, w których choroba już występowała.

PIŚMIENNICTWO

1. Bradley R. Bovine Spongiform encephalopathy distribution and update on some transmission and decontamination studies. W: Gibbs CJ (Jr.), red. Bovine spongiform encephalopathy. The BSE dilemma. 1995. Serona Symposia U.S.A. Inc. Springer-Verlag, New York. 1996a; p. 11-27.
2. Bradley R. Experimental transmission of bovine spongiform encephalopathy. W: Court, L. and Dodet B, red. Transmissible subacute spongiform encephalopathies: prion diseases. Elsevier, Paris. 1996b; p 51-5.
3. Bradley R. An overview of the BSE epidemic in the UK. Dev. Biol. Stand. 1997a; 93: 45-52.
4. Bradley R. Animal prion diseases. W: Collinge J, Palmer MS, red. Prion diseases. Oxford University Press, Oxford. 1997b; p. 89-129.
5. Bradley R. BSE transmission studies with particular reference to blood. Dev Biol Stand 1999; 99: 35-40.
6. Brown P. An epidemiologic critique of Creutzfeldt-Jakob disease. Epidemiologic Rev 1980; 2: 113-35.
7. Bruce M, Chree A, McConnell I, Foster J, Pearson G, Fraser H. Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice: strain variation and the species barrier. Phil Trans R Soc Lond B 1994; 343: 405-11.
8. Bruce M, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttle A, i in. Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. Nature 1997; 389: 498-501.

9. Chatelain J, Cathala F, Brown P, Raharison S, Court L, Gajdusek DC. Epidemiologic comparisons between Creutzfeldt-Jakob disease and scrapie in France during the 12-year period 1968-1979. *J Neuro Sci* 1981; 51: 329-37.
10. CJD. Creutzfeldt-Jakob disease surveillance in the UK. Eighth annual report 1999. National CJD Surveillance Unit, Edinburgh, 1999; p 53.
11. Collee JG, Bradley R. BSE: a decade on - part 2. *Lancet* 1997; 340: 715-21.
12. Collinge J, Sidle KCL, Meads J, Ironside J, Hill AF. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature* 1996; 383: 685-90.
13. EC. Transmissible Spongiform Encephalopathies. Protocols for the laboratory diagnosis and confirmation of bovine spongiform encephalopathy and scrapie. A report from the Scientific Veterinary Committee. September, 1994. European Commission, Brussels, 1994.
14. Gajdusek DC, Gibbs CJ, Alpers M. Experimental 'kuru' in chimpanzees: a pathological report. *Lancet* 1966; ii: 1056-9.
15. Gibbs CJ, Gajdusek DC, Asher DM, Alpers MP, Beck E, Daniel PM, Matthews WB. Creutzfeldt-Jakob disease (spongiform encephalopathy): transmission to the chimpanzee. *Science* 1968; 161: 388-9.
16. Hadlow WJ. Scrapie and kuru. *Lancet* 1959; 2: 289-90.
17. Hadlow WJ, Kennedy RC, Race RE, Eklund C. Virologic and neurohistologic findings in dairy goats affected with natural scrapie. *Vet Pathol* 1980; 17: 187-199.
18. Hadlow WJ, Kennedy RC, Race RE. Natural infection of Suffolk sheep with scrapie virus. *J Inf Dis* 1982; 146: 657-64
19. Ironside JW. nvCJD: exploring the limits of our understanding. *Biologist* 1999; 46: 172-6.
20. Kirkwood JK, Cunningham AA. Epidemiological observations on spongiform encephalopathies in captive wild animals in the British Isles. *Vet. Rec* 1994; 135: 296-303.
21. Leopoldt J. Nuetzliche und auf die Erfahrung gegruendete Einleitung zu der Landwirtschaft, Part 5, chapter 12, Glogau, Berlin, 1759; p 344-60.
22. MAFF, 2000. Bovine spongiform encephalopathy: A progress report, June 2000. MAFF, London; p239.
23. Moynagh J, Schimmel H. Tests for BSE evaluated. *Nature* 1999; 400: 105.
24. OIE, 2000a. International Animal Health Code. Chapter 3.2.13., Bovine spongiform encephalopathy. 2000 Edition. OIE, Paris.
25. OIE, 2000b. Manual of Standards for diagnostic tests and vaccines. Chapter 3.2.13. Bovine spongiform encephalopathy. OIE, Paris (In press).
26. O'Rourke KI, Baszler TV, Parish SM, Knowles DP. Preclinical detection of PrP^{Sc} in nictitating membrane lymphoid tissue of sheep. *Vet. Rec* 1998; 142: 489-91.
27. Pearson GR, Wyatt JM, Henderson JP, Gruffydd-Jones TJ. Feline spongiform encephalopathy: a review. *Vet Ann* 1993; 33: 1-10.
28. Phillips Lord of Worth Matravers, Bridgeman J, Ferguson-Smith M. Report, evidence and supporting papers of the Inquiry into the emergence and identification of bovine spongiform encephalopathy (BSE) and variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) and the action taken in response to it up to March 1996. The Stationery Office, Norwich. Volumes 16. 2000.
29. Report, 1989. Report of the Working Party on Bovine Spongiform Encephalopathy, 1989. Department of Health, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London; p35.
30. Schreuder BEC. BSE agent hypotheses. *Livest Prod Sci* 1994; 38: 23-33.
31. Schreuder BEC, van Keulen LJM, Vromans MEW, Langeveld JPM, Smits MA. Preclinical test for prion diseases. *Nature* 1996; 381: 563.
32. Taylor DM, Woodgate SL, Atkinson MJ. Inactivation of the bovine spongiform encephalopathy agent by rendering procedures. *Vet Rec* 1995; 137: 605-10.
33. Taylor DM, Woodgate SL, Fleetwood AJ, Cawthorne RJG. Effect of rendering procedures on the scrapie agent. *Vet Rec* 1997; 141: 643-9.

34. Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock RD, Jeffrey M, i in. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet Rec* 1987; 121: 419-20.
35. Wells GAH, Dawson M, Hawkins SAC, Austin AR, Green RB, Dexter I, Horigan MW, Simmons MM. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy. W: Gibbs CJ (Jr.), red. *Bovine spongiform encephalopathy. The BSE dilemma*. 1995. Serona Symposia U.S.A. Inc. Springer-Verlag, New York 1996; p 28-44.
36. Wells GAH, Hawkins SAC, Green RB, Austin AR, Dexter I, Spencer YI, i in. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. *Vet Rec* 1998; 142: 103-6.
37. Wells GAH, Hawkins SAC, Green RB, Spencer YI, Dexter I, Dawson M. Limited detection of sternal bone marrow infectivity in the clinical phase of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Vet. Rec* 1999; 144: 292-4.
38. WHO. Report of a WHO consultation on public health issues related to human and animal transmissible spongiform encephalopathies with the participation of FAO and OIE. Geneva, Switzerland, 2-3 April 1996. WHO, Geneva 1996; p 9.
39. Wilesmith JW. Recent observations on the epidemiology of bovine spongiform encephalopathy. In: *Bovine spongiform encephalopathy. The BSE dilemma*. 1995. Serona Symposia U.S.A. Inc. Ed. Gibbs, C.J. (Jr.). Springer-Verlag, New York. 1996; p 45-55.
40. Wilesmith JW, Wells GAH, Cranwell MP, Ryan JBM. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies. *Vet Rec* 1988; 123: 638-44.
41. Wilesmith JW, Ryan JBM, Atkinson MJ. Bovine spongiform encephalopathy: epidemiological studies on the origin. *Vet Rec* 1991; 128: 199-203.
42. Wilesmith JW. Manual on Bovine Spongiform Encephalopathy. FAO Animal Health Manual No. 2. FAO of the UN, Rome. 1998; p. 51.
43. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, i in. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 1996; 347: 921-5.
44. Wrathall AE. Risks of transmission of spongiform encephalopathies by reproductive technologies in domesticated ruminants. *Livest Prod Sci* 2000; 62: 287-316.
45. Wyatt JM, Pearson GR, Smerdon TN, Gruffydd-Jones TJ, Wells GAH. Spongiform encephalopathy in a cat. *Vet Rec* 1990; 126: 513.

Adres autora:

Raymond Bradley

Private BSE Consultant

Veterinary Laboratories Agency

New Haw, Addlestone, KT15 3NB

United Kingdom

E-mail raybradley@btinternet.com

1. The first part of the document discusses the general principles of the law of contract, including the formation of a contract, the elements of a contract, and the remedies available for breach of contract.

2. The second part of the document discusses the law of tort, including the elements of negligence, the duty of care, and the remedies available for tortious wrongs.

3. The third part of the document discusses the law of property, including the elements of a freehold estate, the rights of a landlord and tenant, and the remedies available for breach of a lease.

4. The fourth part of the document discusses the law of trusts, including the elements of a trust, the duties of a trustee, and the remedies available for breach of a trust.

5. The fifth part of the document discusses the law of succession, including the elements of a will, the duties of an executor, and the remedies available for breach of a will.

6. The sixth part of the document discusses the law of evidence, including the rules of evidence, the burden of proof, and the remedies available for breach of the rules of evidence.

7. The seventh part of the document discusses the law of procedure, including the rules of procedure, the burden of proof, and the remedies available for breach of the rules of procedure.

8. The eighth part of the document discusses the law of remedies, including the remedies available for breach of contract, tort, property, trusts, and succession.

9. The ninth part of the document discusses the law of remedies, including the remedies available for breach of contract, tort, property, trusts, and succession.

10. The tenth part of the document discusses the law of remedies, including the remedies available for breach of contract, tort, property, trusts, and succession.

11. The eleventh part of the document discusses the law of remedies, including the remedies available for breach of contract, tort, property, trusts, and succession.

12. The twelfth part of the document discusses the law of remedies, including the remedies available for breach of contract, tort, property, trusts, and succession.

13. The thirteenth part of the document discusses the law of remedies, including the remedies available for breach of contract, tort, property, trusts, and succession.

14. The fourteenth part of the document discusses the law of remedies, including the remedies available for breach of contract, tort, property, trusts, and succession.

15. The fifteenth part of the document discusses the law of remedies, including the remedies available for breach of contract, tort, property, trusts, and succession.

BOGUMIŁA LITWIŃSKA

PRIONY – NOWY CZYNNIK ZAKAŻNY

Zakład Wirusologii Państwowego Zakładu Higieny
Kierownik: prof. dr hab. Mirosław Kańtoch

Pasażowalne encefalopatie gąbczaste zaliczane są do śmiertelnych, neurodegeneracyjnych chorób, w których występuje silne podobieństwo objawów klinicznych i czynników, które je wywołują. Podstawowym uszkodzeniem jest rozwój wakuoli w neuronach oraz w mniejszym stopniu w astrocytach i oligodendrocytach, intensywny przerost astrogleju, a w końcowym etapie zmiany gąbczaste w substancji szarej. Choroby te mają szereg wspólnych właściwości: ich patologia dotyczy układu nerwowego; wywołują odczynową astrocytozę w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) z kompletnym brakiem odpowiedzi zapalnej; mają bardzo długi okres inkubacji; zakaźność związana jest z odkładaniem w mózgu włókien amyloidalnych białek tworzonych przez polimery proteazo-opornych sialoglikoprotein. W zależności od umiejscowienia się zmian chorobowych, obserwuje się różne objawy i tak w przypadku gdy dotyczą one mózdzku – obniżenie zdolności koordynacji ruchów; kory mózgowej – upośledzenie pamięci, sprawności umysłowej; wzgórza – zaburzenia snu; pnia mózgu – upośledzenie ruchów; rdzenia kręgowego – drżenia. Rozwój choroby może nastąpić w wyniku dziedziczenia choroby, pojawić się spontanicznie względnie poprzez przeniesienie choroby z jednego organizmu na inny. Pasażowalne encefalopatie gąbczaste występują zarówno u zwierząt jak i u ludzi.

Prototypową chorobą wszystkich encefalopatii gąbczastych jest scrapie, atakująca owce, kozy i muflony, choroba znana już od 200, niektórzy twierdzą że nawet od 250 lat. Jej pasażowalność została udowodniona eksperymentalnie w 1936 roku, ale jako pierwszy uznał ją za chorobę zakaźną Besnoit już w 1899 roku. Występuje wśród owiec, najczęściej w Wielkiej Brytanii i Irlandii, rzadko w innych krajach. Przenoszona jest głównie drogą horyzontalną poprzez jamę ustną, spojówki, ubytki skórne, paszę (zakażone pastwiska).

Dowodem, że scrapie może zostać przeniesione ze zwierzęcia na zwierzę były badania wykonane na modelu myszy. Oczyszczenie tkanki mózgowej zakażonych zwierząt oraz wirowania w gradiencie wykazały, że infekcyjność była związana z nitkowatymi pałeczkami, nazwanymi pałeczkami prionowymi lub włókieńkami związanymi ze scrapie.

W 1954 roku, na bazie obserwacji scrapie, została rozwinięta przez Sigurdsson'a (1) koncepcja wirusów „powolnych”, jako przyczyny przewlekłych schorzeń. Sigurdsson określił przypadki wywoływane przez wirusy „powolne” jako: 1. mające bardzo długi okres inkubacji (miesiące, lata); 2. wydłużoną fazę objawów klinicznych oraz występo-

wanie ciężkich powikłań; 3. zakaźność ograniczoną do pojedynczych gospodarzy, a czasami nawet tylko do poszczególnych układów. Hipoteza wzbudziła ogromne zainteresowanie z uwagi na wskazanie, iż czynnik zakaźny może być podłożem wielu przewlekłych chorób powodujących zmiany degeneracyjne w określonych narządach lub tkankach.

Do tej pory zostało wykrytych u ludzi szereg chorób, uprzednio nieznanych, które odpowiadają obrazowi klinicznemu, charakterystycznemu dla encefalopatii gąbczastych. Choroba Kuru została opisana jako pierwsza choroba zwyrodnieniowa OUN człowieka w 1957 roku przez prof. Gajduska (2). Występuje endemicznie na Nowej Gwinei, wśród ludzi grupy plemienia Fore. Choroba szerzyła się wskutek rytualnego kanibalizmu i po jego zaprzestaniu liczba chorych na Kuru zaczęła spadać. Obecnie obserwowane są dwa lub trzy przypadki rocznie u osób po 40 roku życia. Bezpośredniego dowodu na to, że jest to choroba pasażowalna dostarczył prof. Gajdusek, który wykonał pasaż Kuru na szympansy. Za to właśnie otrzymał nagrodę Nobla w 1976 roku. Najbardziej charakterystyczną cechą Kuru jest występowanie u 75% przypadków chorych blaszek amyloidalnych, zwanych obecnie „blaszkami Kuru”. Blaszkki te występują głównie w mózdzku, ale również w jądrach kresomózgowia, wzgórzu, korze mózgowej.

Odkrycie prof. Gajduska dotyczące pasażowalności choroby Kuru nabrało znaczenia gdy stwierdzono, że podobny lub identyczny czynnik wywołuje chorobę opisaną po raz pierwszy przez Creutzfeldta w 1920 roku (3) a następnie przez Jakoba w 1921 roku (4) i nazwaną od nazwisk autorów chorobą Creutzfeldta-Jakoba (CJD). Do chwili obecnej wielokrotnie wskazywano na istnienie podobieństwa między czynnikami wywołującymi chorobę kuru, CJD scrapie u owiec oraz encefalopatię gąbczastą u bydła (5, 6, 7).

Nie udało się potwierdzić, wysuniętej w 1954 koncepcji, jakoby pasażowalne encefalopatie gąbczaste (TSE od słów transmissible spongiform encephalopathy) miały być wywołane przez wirusy „powolne”. Nigdy nie udało się izolować tzw. „TSE-wirusa”, nigdy nie stwierdzono odpowiedzi immunologicznej w następstwie zakażenia czynnikiem wywołującym TSE, co mogłoby udokumentować etiologię wirusową tych schorzeń. Ponadto, ten zakaźny patogen wykazuje ogromną oporność na działanie różnych czynników fizycznych i chemicznych, a mianowicie: temperatury, promieniowania UV, promieniowania jonizującego, środków chemicznych. Po zastosowaniu wymienionych czynników nadal pozostaje aktywny, podczas gdy w takich samych warunkach cząstki wirusowe ulegają inaktywacji.

W 1967 r. wysunięto szalenie kontrowersyjną teorię, będącą zaprzeczeniem podstawowego dogmatu genetyki, iż tylko DNA jest nośnikiem informacji genetycznej. Zaproponowano, że czynnik wywołujący TSE może być samoencefalopatie gąbczaste może być samoreplikującą się cząsteczką białka. Kolejne doświadczenia wykazały, że infekcyjność scrapie może być związana ze szczególnym proteazo-opornym białkiem i w 1982 roku został wprowadzony przez Stanleya Prusiner'a termin prion, w celu określenia czynnika etiologicznego pasażowalnych neurodegeneracyjnych uszkodzeń, występujących zarówno u zwierząt jak i u ludzi (8, 9). To określenie zostało utworzone dla hipotetycznej, proteinopodobnej zakaźnej cząsteczki, odpornej na działanie procesów powodujących hydrolizę względnie modyfikację kwasów nukleinowych. Metody biologii molekularnej przyczyniły się do rozwoju wiedzy na temat czynnika TSE i często

podtrzymywane jest założenie hipotezy cząstki białkowej jako czynnika zakaźnego. Została sformułowana definicja prionów, wg której priony są małymi, białkopodobnymi cząstkami zakaźnymi, opornymi na procedury inaktywacyjne, które niszczą kwasy nukleinowe. Do obecnej chwili nie wykryto kwasów nukleinowych ani jakiegokolwiek rodzaju cząsteczek wiruso-podobnych, które byłyby związane z prionami. Priony wywołują scrapie oraz inne encefalopatie gąbczaste u zwierząt i ludzi. Można wymienić szereg cech odróżniających priony od wirusów. Po pierwsze, priony mogą występować w złożonych strukturach wielocząsteczkowych, podczas gdy wirusy istnieją w formach pojedynczych, z odrębną morfologią ultrastrukturalną. Po drugie, priony nie są immunogenne, natomiast wirusy prawie zawsze stymulują odpowiedź immunologiczną. Po trzecie, brak jest dowodów na powiązanie kwasów nukleinowych z infekcyjną cząsteczką prionową, podczas gdy wirusy zawierają genom zbudowany z kwasu nukleinowego, który jest odpowiedzialny za syntezę potomnych cząstek wirusowych. Po czwarte, jedyną znaną komponentą prionu jest białko PrP^C, które kodowane jest przez chromosomalny gen gospodarza, podczas gdy wirusy zbudowane są z kwasu nukleinowego, białek, a często posiadają jeszcze inne elementy strukturalne.

Białko prionowe (PrP^C) jest występującym fizjologicznie białkiem, zakotwiczonym przez glikofosfoinozytol w zewnętrznej błonie komórkowej. Jego ciężar wynosi 27–30 kDa. PrP^C jest kodowane przez gen położony na 20 chromosomie, a jego ekspresja ma miejsce w komórkach mózgu i szeregu innych tkanek (10, 11). W ośrodkowym układzie nerwowym białko PrP^C jest syntetyzowane w neuronach (12, 13). Jego biologiczna funkcja nie jest w pełni poznana, ale badania prowadzone na myszach pozbawionych genu PrP sugerują, że białko PrP^C kodowane przez ten gen, może chronić przed otępieniem i innymi zmianami degeneracyjnymi w mózgu, związanymi z procesem starzenia. Pasożaralny czynnik zakaźny nazywany PrP^{Sc} jest isoformem pierwotnego białka PrP^C. W przeciwieństwie do PrP^C, „zakaźny” prion jest oporny na działanie enzymów proteolitycznych i nie jest rozpuszczalny w wodzie. Charakterystyka jego właściwości fizycznych i chemicznych była możliwa do przeprowadzenia dzięki izolacji, w wystarczająco czystej postaci, PrP^{Sc} z mózgu pacjenta z chorobą prionową (14). Białko PrP^{Sc} okazało się być odporne na działanie czynników, które inaktywują wirusy, natomiast można je zniszczyć podczas autoklawowania oraz zastosowania ekstremalnego pH. Różnica między fizjologiczną i patologiczną formą białka wydaje się być jedynie wynikiem przekształcenia struktury przestrzennej cząsteczki, która ma miejsce po procesie translacji. Cząsteczka fizjologicznego białka PrP^C ma trójwymiarowy, spiralny kształt α -helisy. Patologiczna cząsteczka „zakaźnego” białka prionowego jest wynikiem zmian konformacyjnych, w trakcie których spirala α -helisy przekształcona zostaje w formę płaską β , nabywając jednocześnie oporność na działanie wysokiej temperatury i enzymów proteolitycznych. Hipoteza prionowa zakłada, że raz wytworzona patologiczna izoforma PrP^{Sc} działa jako „matryca”, na której dochodzi do przekształcania się kolejnych cząstek fizjologicznego białka PrP^C w formę PrP^{Sc}. Proces ten przypomina reakcję łańcuchową, w czasie której powstaje coraz więcej cząsteczek patologicznego białka. Badania przeprowadzone na myszach zdają się przemawiać za słusznością tej hipotezy. Otóż domózgowe podanie myszom białka PrP^{Sc} indukuje zmianę fizjologicznego białka PrP^C w formę patologiczną, następuje zwiększenie liczby cząstek czynnika „zakaźnego”, co stymuluje rozwój zmian neurodegeneracyjnych. Wykonanie

tego samego doświadczenia u myszy pozbawionych genu PrP pokazało, że nie dochodzi u nich do rozwoju zmian gąbczastych wywołanych obecnością PrP^{Sc}. Wysłunięto więc wnioski, że fizjologiczne białko w wyniku potranslacyjnej zmiany konfiguracji zmienia się w pasażowalny czynnik, który jest patogenny dla myszy, chomików, naczelnych oraz dla człowieka (15).

Obecnie została już w badaniach *in vitro* potwierdzona możliwość konwersji fizjologicznego białka PrP^C w strukturę „zakaźną” (16). Otrzymane w drodze syntezy ludzkie białko prionowe posiadało kształt α -helisy oraz podwójny mostek dwusiarczkowy. Redukcja mostka oraz obniżenie pH do 4.0 spowodowało przekształcenie konfiguracji α do formy β . Tak zmieniona cząsteczka wykazywała częściową oporność na proteinazę K, a jest to charakterystyczna cecha patologicznego białka PrP^{Sc}. Stwierdzono również, że umieszczenie tego białka w roztworze soli, o koncentracji podobnej do występującej w tkance mózgowej, stymulowało powstawanie włóknkowych struktur, które znajdują się w OUN w przypadkach encefalopatii gąbczastych. Wykazano także możliwość rewersji struktury β PrP^{Sc} do pierwotnej formy α -helikalnej, pod wpływem alkalicznego pH 8.0.

Istotnym elementem w potwierdzeniu słuszności założenia hipotezy prionu, jako czynnika zakaźnego, było określenie warunków wpływających na prawdopodobieństwo przeniesienia czynnika pasażowalnych encefalopatii gąbczastych na kolejny organizm. Badania doświadczalne wskazały, że bardzo istotnym elementem jest droga zakażenia i możliwość przeniesienia czynnika TSE maleje w następującym porządku:

domózgowa	najsukuteczniejsza
dożylna	↓
dootrzewnowa	
podskórna	
pokarmowa	najmniej skuteczna

W przypadku drogi pokarmowej do wywołania procesu chorobowego wymagane jest około 10^5 razy więcej cząstek prionowych aniżeli przy podaniu domózgowym.

Badania prowadzone u owiec z czynnikiem wywołującym scrapie wykazały, że po doobwodowym podaniu czynnika TSE, najwcześniej w zakażonym organizmie jest on wykrywalny w śledzionie i węzłach chłonnych. Do ośrodkowego układu nerwowego dostaje się najprawdopodobniej drogą włókien nerwowych unerwiających śledzionę. Jest interesujące, że splenektomia wykonana we wczesnym okresie choroby opóźnia neuroinwazyjność, co sugeruje znaczenie układu limfatycznego w początkowym stadium zakażenia.

Kolejnym, istotnym czynnikiem określającym pasażowalność czynnika TSE jest „bariera gatunkowa”. Dużo trudniejszy jest pasaż zakażenia na osobnika innego gatunku, o czym przekonano się kiedy próbowano przepasażować scrapie z owiec na gryzonia. Sugerowano wówczas, że struktura PrP^C odgrywa znaczącą rolę w określaniu bariery gatunkowej: im większa homologia między strukturą białka prionowego dawcy i gospodarza, tym bardziej jest prawdopodobne, że u gospodarza rozwinie się choroba. Podejrzenia te zostały potwierdzone przez Raymonda i wsp. w 1997 r. (17). Zaobserwowano także, że w porównaniu do pierwotnego międzygatunkowego pasażu, kolejne pasaże czynnika w obrębie tego samego gatunku skracają czas inkubacji choroby, przy

tej samej drodze podania. Wskazuje to na istnienie możliwości adaptacji czynnika TSE do innego gatunku.

Wiele przyczyn wpływa również na okres inkubacji choroby, a mianowicie: od droga podania materiału, zakaźność („szczepu”) czynnika, wysokość dawki zakażającej – zależność wprost proporcjonalna, niska dawka równa się długiemu okresowi inkubacji. Nadal otwartym zagadnieniem pozostaje możliwość wywołania choroby w następstwie efektu akumulacji dawki zakaźnej w wyniku wielokrotnego powtarzania, w określonym okresie czasu, tzw. dawek podprogowych (sub-transmissible).

Chociaż teoria prionowa cieszy się wzrastającą popularnością od ponad 15 lat, wielu naukowców nadal skłania się za przyjęciem hipotezy, że czynnik pasażalny jest częstką wiruso-podobną, zawierającą DNA. Istnieje argumentacja, że być może zakaźny DNA jest związany z, lub chroniony przez, białko gospodarza. Jako argumenty hipotezy wirusowej podawane jest istnienie różnych „szczepów” czynnika TSE, które mogą być wykrywane u gospodarzy z identycznym genotypem PrP, co sugeruje istnienie szczepowo swoistej cząsteczki informacyjnej, niezależnej od PrP. Taką cząsteczką mógłby być kwas nukleinowy. Kolejną hipotezą jest hipoteza wirino, wg której cząsteczki TSE są formowane wówczas, gdy fizjologiczne białko PrP^C wiąże się z obcym, patogennym kwasem nukleinowym. Cząsteczka wirino, podobnie jak wirus składa się z białka i kwasu nukleinowego. Istnieje jednak zasadnicza różnica, białko jest bowiem określane przez genom gospodarza, a nie jak w przypadku wirusów, przez genom patogenu. Hipoteza wirino tłumaczyłaby możliwość istnienia różnych „szczepów” prionów, które wywołują różny obraz chorobowy. Do chwili obecnej nie udało się jednak znaleźć jakiegokolwiek połączenia kwasu nukleinowego z cząsteczkami TSE. Fakt ten przyczynił się do uznania teorii prionowej, która zróżnicowanie „szczepowe” próbuje tłumaczyć zdolnością PrP do przechowywania szczepowej informacji, dotyczącej możliwości adoptowania różnych ukształtowań przestrzennych. Teoria prionowa nie wyjaśnia jednak dlaczego zmieniona struktura białka wywołuje zmiany neurodegeneracyjne. Wiadomo jedynie, że podłożem wszystkich pasażalnych encefalopatii jest synteza i przetwarzanie molekularnie odmiennego amyloidu, który następnie odkłada się w tkankach mózgu. Być może akumulacja prionów w tkance mózgowej powoduje apoptozę i ten mechanizm jest odpowiedzialny za proces chorobowy. Pojawiają się również sugestie, że nie akumulacja białka PrP^{Sc} lecz zmniejszenie ilości fizjologicznego białka PrP^C jest przyczyną chorób neurodegeneracyjnych. Obecnie, zagadnienia te pozostają otwarte.

PIŚMIENNICTWO

1. Sigurdsson B. Rida, a chronic encephalitis of sheep with general remarks on infections which develop slowly and some of their special characteristics. *Br Vet J* 1954; 110: 341–51.
2. Gajdusek D. Observations on the early history of kuru investigation. W: Prusiner S, Hadlow W, red. *Slow Transmissible Diseases of the Nervous System*. Academic Press, New York, 1979; 1: 7–35.
3. Creutzfeldt HG. Über eine eigenartige herdförmige Erkrankungen des Zentralnervensystems. *Z Gesamt Neurol Psychiat* 1920; 57: 1–18.
4. Jakob A. Über eigenartige herdförmige Erkrankungen des Zentralnervensystems mit bemerkenswerten anatomischen Befunden. *Z Gesamt Neurol Psychiat* 1921; 61: 147–228.
5. Hadlow W. Scrapie and kuru. *Lancet* 1959; 2: 289–90.
6. Hunter G. Scrapie: A prototype slow infection. *J Infect Dis* 1972; 125: 427–40.

7. Liberski PP, Yanagihara R, Wells GA, Gibbs CJ Jr, Gajdusek DC. Comparative ultrastructural studies of bovine spongiform encephalopathy, scrapie and Creutzfeldt-Jakob disease. *J Comp Pathol* 1992; 106: 361-81.
8. Prusiner S. Prions and neurodegenerative diseases. *New Engl J Med* 1987; 317: 1571-81.
9. Prusiner S, Telling G, Cohen F, i in. Prion diseases of humans and animals. *Sem Virol* 1996; 7: 159-73.
10. Muramoto T, Kitamoto T, Tateishi J, i in. The sequential development of abnormal prion protein accumulation in mice with Creutzfeldt-Jacob disease. *Am J Pathol* 1992; 140: 1411-20.
11. Pammer J, Weninger W, Tschachler E. Human keratinocytes express cellular prion-related protein in vitro and during inflammatory skin diseases. *Am J Pathol* 1998; 153: 1353-8.
12. DeArmond S, Prusiner S. Etiology and pathogenesis of prion diseases. *Am J Pathol* 1995; 146: 785-811.
13. Bruce M, McBride P, Farquhar CF. Precise targeting of the pathology of the sialoglycoprotein, PrP, and vacuolar degeneration in mouse scrapie. *Neurosci Lett* 1989; 102: 1-6.
14. Piccardo P, Safar J, Ceroni M, i in. Immunohistochemical localization of prion protein in spongiform encephalopathies and normal brain tissue. *Neurology* 1990; 40: 518-22.
15. Horwich A, Weissman J. Deadly conformations: Protein misfolding in prion disease. *Cell* 1997; 89: 499-510.
16. Jackson GS, Hosszu LLP, Power A, Hill AF, Kenney J, Saibil H, i in. Reversible Conversion of Monomeric Human Prion Protein Between Native and Fibrillogenic Conformations. *Science* 1999; 283: 1935-7.
17. Raymond GJ, Hope J, Kocisko DA. i in. Molecular assessment of the potential transmissibilities of BSE and scrapie to human. *Nature* 1997; 388: 285-7.

Adres autorki:

Bogumiła Litwińska

Zakład Wirusologii Państwowego Zakładu Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

WIESŁAW MAGDZIK

ENCEFALOPATIE GĄBCZASTE (CHOROBY PRIONOWE) LUDZI

Państwowy Zakład Higieny. Zakład Epidemiologii
Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

Scrapie u owiec i kóz było pierwszą encefalopatią gąbczastą zidentyfikowaną przed ponad dwustu laty. U ludzi pierwszą chorobą z tej grupy opisaną w latach dwudziestych dwudziestego wieku była choroba Creutzfeldta-Jakoba.

Badania nad czynnikiem etiologicznym tych chorób trwały kilkadziesiąt lat. Podejrzewano, że czynnikiem etiologicznym jest białko, określane jako żywa cząstka białka, nie powodująca odpowiedzi serologicznej nie zawierająca kwasów nukleinowych. Występujące różnice molekularne między białkami powodującymi różne encefalopatie gąbczaste określane były jako szczepy prionów. Najwyższą koncentrację prionów stwierdzono w centralnym układzie nerwowym.

Wyniki badań prof. Stanleya Prusiner'a ze Stanów Zjednoczonych, za które przyznano została mu nagroda Nobla w 1997 roku, określiły istotę prionów.

Krótki okres jaki minął od pierwszych obserwacji i badań naukowych dotyczących problemów związanych z chorobami prionowymi jest przyczyną, że wiele spraw dotychczas nie w pełni poznano. Dlatego przy prezentacji problemów często używany jest tryb warunkowy i przedstawia się je jako nie w pełni ustabilizowane.

Białkowa cząstka zakaźna określana jako prion (Pr-P) stanowi jedną z dwóch konformacji przestrzennych białka gospodarza, z których jedna jest prawidłowa, a druga, wyjątkowo stabilna i oporna na czynniki zewnętrzne zwłaszcza na temperaturę, prowadzi do choroby. Białko prionu chorobotwórczego ma właściwości zakaźne. Może zapoczątkować reakcję łańcuchową, w wyniku której białko niechorobotwórcze jest przekształcane w formę chorobotwórczą. Jest to proces powolny, trwający do ujawnienia się objawów chorobowych, nawet kilkadziesiąt lat. Priony w centralnym układzie nerwowym tworzą agregaty i struktury niciowe. Rozwijając się są przyczyną nasilonego procesu obumierania komórek nerwowych. Miejsca po komórkach nerwowych pozostają niewypełnione. Z tego powodu obszary zainfekowanego prionami mózgu mają charakterystyczną porowatą i gąbczastą konsystencję. Stąd nazwa tej grupy chorób – encefalopatie gąbczaste.

Zależnie od obszaru centralnego układu nerwowego zainfekowanego przez priony obserwuje się różne objawy chorobowe u chorych na różne encefalopatie gąbczaste, a w mniejszym stopniu nawet u chorych na tę samą chorobę.

Białko prionowe Pr-P, które zapoczątkowuje reakcję łańcuchową przekształcania białka niechorobotwórczego w białko prionowe może być dziedziczne, w wyniku mutacji genu i rodzinnych uzależnień, lub wynikiem transmisji od zakażonych nim ludzi

lub zwierząt. Wśród chorych na chorobę Creutzfeldta-Jakoba forma dziedziczna genetycznie związana z mutacją genu Pr.P-3 występująca u krewnych pierwszego stopnia stanowi do 10% przypadków, przypadki zakażone od innych ludzi – do 5%. Natomiast 85%, lub nawet więcej zachorowań, stanowią tzw. przypadki sporadyczne, dla których nie udaje się ustalić przyczyny zachorowania. Biorąc pod uwagę długi okres wylegania choroby wydaje się to być wy tłumaczalne i usprawiedliwione.

Choroba Creutzfeldta-Jakoba może szerzyć się jatrogenie. W przeszłości stwierdzono, że stosowanie hormonów produkowanych z przysadek pobranych ze zwłok było przyczyną zakażeń: około 130 przypadków wystąpiło po stosowaniu hormonu wzrostu; 4 – hormonu płciowego. Zaprzestanie stosowania hormonów w ten sposób produkowanych i wprowadzenie produkcji syntetycznych preparatów zlikwidowało transmisję tego typu zakażeń.

Choroba Creutzfeldta-Jakoba występowała ponadto po przeszczepach tkanek położonych w pobliżu centralnego układu nerwowego. Około 110 przypadków stwierdzono po przeszczepie opony twardej, kilka po przeszczepie rogówki. Chorobę Creutzfeldta-Jakoba stwierdzono także po zabiegach neurochirurgicznych na centralnym układzie nerwowym. Wysokiego stopnia oporność prionów na czynniki zewnętrzne, zwłaszcza na temperaturę, utrudnia uzyskanie sterylności sprzętu w stosunku do prionów. Sprzęt jednorazowego użytku jest ograniczony asortymentowo.

W świetle obserwacji szerzenia się kuru oraz międzygatunkowego szerzenia się BSE (bovine spongiform encephalopathy) droga pokarmowa szerzenia się prionów wydaje się być bardzo istotna.

Priony trafiają prawdopodobnie do organizmu z jelita cienkiego. System immunologiczny najwidoczniej w ogóle nie reaguje na nie, gdyż mało się one różnią od własnych białek. Odznaczają się jedynie inną strukturą molekularną. Priony potrafią najwidoczniej wykorzystać nawet system obrony organizmu. Dość szybko opanowują układ limfatyczny. Stamtąd trafiają do obwodowego systemu nerwowego. Wzdłuż nerwów dostają się do centralnego układu nerwowego, gdzie rozmnażają się przez wiele lat. Nie jest znana dawka prionów zakażających człowieka. Minimalna dawka potrzebna do wywołania BSE u krowy wynosi 0,1 g zakażonego mózgu.

Możliwość szerzenia się chorób prionowych drogą naruszenia ciągłości tkanek, a zwłaszcza drogą transfuzji krwi, nie została definitywnie stwierdzona. Nie stwierdzono zachorowań na chorobę Creutzfeldta-Jakoba wśród biorców pobierających częste transfuzje krwi lub preparatów krwiopochodnych, np. wśród chorych na hemofilię. W materiale zebrany w świecie stwierdzono kilkanaście zachorowań na chorobę Creutzfeldta-Jakoba wśród osób, które miały przetoczenie krwi, lecz bez powiązań epidemiologicznych. Mimo to, uznając taką możliwość za prawdopodobną, podczas posiedzenia regionalnych konsultantów krwiodawstwa zorganizowanego przez Światową Organizację Zdrowia w dniu 16 grudnia 1997 roku zalecono eliminację spośród dawców osób z chorobą Creutzfeldta-Jakoba (CJD), z zespołem Gestmana-Strauslera-Scheinkera (GSS), z rodzimą śmiertelną bezsennością (FFI), a także osób z demencją, osób, które były poddane leczeniu wyciągami przysadki, osób z przeszczepem ludzkiej twardówki lub rogówki, oraz osób z rodzimym wywiadem CJD, GSS, FFI.

W Polsce, w obawie transmisji wariantu choroby Creutzfeldta-Jakoba, przyjęto zasadę eliminacji spośród krwiodawców osób, które przebywały w Wielkiej Brytanii,

Francji i Irlandii między 1990 a 1996 rokiem dłużej niż 6 miesięcy. Kryteria te traktować należy jako umowne, a nie stanowiące zabezpieczenia epidemiologicznego.

Okres wylęgania chorób prionowych jest na ogół długi. Wynosi kilka, kilkanaście, a nawet kilkadziesiąt lat. Dla choroby Creutzfeldta-Jakoba w warunkach naturalnych szacuje się okres wylęgania na 10–30 lat, a po zakażeniu domózwogowym wynosi zaledwie kilkanaście miesięcy.

Najwcześniej i najlepiej poznaną encefalopatią gąbczastą człowieka jest choroba Creutzfeldta-Jakoba (CJD). Pierwszy przypadek opisany został w 1921 roku. Do 1968 roku stwierdzono na świecie 150 zachorowań. W latach późniejszych stwierdzano tę chorobę na całym świecie z przeciętną częstotliwością 1 zachorowania na 1 milion mieszkańców w stosunku rocznym. Wysoka zapadalność dochodząca do 40 na 1 milion stwierdzono wśród Żydów w Libii, jako wynik częstych zachorowań rodzinnych. W niektórych innych krajach, w tym także w Wielkiej Brytanii i w Polsce, notowane są znacznie niższe liczby zachorowań, najczęściej jako wynik niedostatecznego rozpoznawania i niedorejestrowania.

W Polsce choroba Creutzfeldta-Jakoba nie jest wymieniona w wykazie chorób zakaźnych objętych obowiązkiem zgłaszania. Od 1996 roku rejestracja zachorowań obejmuje zgłoszenia nadsyłane do stacji sanitarno-epidemiologicznych w wyniku prośby Głównego Inspektora Sanitarnego skierowanej do lekarzy wojewódzkich. W okresie 4 lat (1996–1999 rok) zarejestrowano 19 zachorowań. Według danych szacunkowych powinno być zarejestrowanych 150–160 przypadków.

W projekcie rozporządzenia, mocą którego encefalopatie gąbczaste mają być wprowadzone do listy chorób zakaźnych, znajduje się zapis „choroba Creutzfeldta-Jakoba i inne encefalopatie gąbczaste”.

Zachorowania na CJD występują u osób starszych od 50 lat, w największej liczbie wśród osób w wieku 60–69 lat. Zachorowania osób młodszych od 50 lat należą do rzadkości.

Objawami choroby Creutzfeldta-Jakoba jest otępienie i objawy neurologiczne związane z uszkodzeniem różnych części mózgu i rdzenia kręgowego. Zgon następuje po 2 do 10 miesięcy od wystąpienia pierwszych objawów chorobowych.

Wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba (vCJD) to choroba, która była podejrzana o to, że jest wynikiem zakażenia od bydła chorego na encefalopatię gąbczastą bydła (BSE). Obecnie hipoteza ta uzyskała wysoki stopień prawdopodobieństwa i przyjmowana jest w zasadzie jako pewnik.

Pierwsze zachorowania na vCJD wystąpiły w Wielkiej Brytanii w lutym 1994 roku. Do marca 1996 roku zanotowano 10 zachorowań. Wówczas na specjalnie zorganizowanej konferencji prasowej powiadomiono świat o tym problemie. W dalszych latach liczba zachorowań wzrastała. Do końca 2000 roku zachorowało na vCJD co najmniej 88 osób, z tego 84 osoby w Wielkiej Brytanii, 3 osoby we Francji, 1 osoba w Irlandii. Liczba zachorowań od 1995 roku wykazuje trend wzrostowy. Próby szacunku kształtowania się zachorowań na vCJD w przyszłości pozwalają sądzić, że szacunek ten jest zależny przede wszystkim od długości okresu wylęgania tej choroby. Przyjmuje się, że obecnie źródło zakażenia jakie stanowi zakażone bydło zostało unieszkodliwione. Jeżeli okres wylęgania będzie wynosić do 10 lat liczba zachorowań powinna wynieść kilkaset,

jeżeli natomiast wynosić będzie do 25 lat, to liczba zachorowań może wynieść nawet kilkadziesiąt tysięcy.

Zachorowania na vCJD występują wśród osób młodszych niż zachorowania na CJD. Przeciętny wiek chorych wynosi 29 lat. Większość zachorowań nie przekracza 40 lat życia. Wśród osób, które zachorowały do końca 2000 roku najmłodsza miała 12 lat, najstarsza 74 lata.

Zgon z powodu vCJD występuje na ogół po okresie nieco dłuższym od roku od wystąpienia pierwszych objawów chorobowych, a więc po okresie dłuższym niż w przypadku CJD.

W przebiegu vCJD stwierdza się poza objawami występującymi w przebiegu CJD zaburzenia psychiczne, które często wyprzedzają otępienie i objawy neurologiczne.

Do chorób prionowych zalicza się również kuru (w bezpośrednim tłumaczeniu „śmiejąca się śmierć” od wyrazu twarzy umierających z powodu tej choroby). Choroba występowała wśród kanibali z plemienia Fore na Nowej Gwinei. Przyczyną jej szerzenia było spożywanie mózgu zmarłych przodków. Problem tej choroby został zbadany przez Carletona Gajduska. Zakaz kanibalizmu przyczynił się w zasadzie do eliminacji tej choroby. Wyniki tych badań były podstawą przyznania C. Gajduskowi nagrody Nobla w 1976 roku.

Poza CJD i vCJD znane są ponadto dwie przekazywane dziedzicznie choroby prionowe, tj. zespół Gerstmana-Strauslera-Scheinekera, określany w skrócie literowym GSS, na który zapadają członkowie 50 rodzin, oraz zidentyfikowana w 1995 roku śmiertelna rodzinna bezsenność (FFI), na którą zapadają członkowie 9 rodzin.

Istnieją podejrzenia, że choroba Parkinsona, choroba Alzheimerera oraz stwardnienie rozsiane mogą mieć zbliżoną etiologię i patogenezę do encefalopatii gąbczastych.

* Artykuł zawiera ogólnie dostępne informacje uzyskane z publikacji Światowej Organizacji Zdrowia, informacji prasowych ogólnych i profesjonalnych i z odpowiednich ministerstw, innych urzędów i instytucji, w celu w miarę całościowego udostępnienia tych danych dla osób zainteresowanych.

Adres autora:

Wiesław Magdzik

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

ENCEFALOPATIE GĄBCZASTE (CHOROBY PRIONOWE) ZWIERZĄT

Państwowy Zakład Higieny. Zakład Epidemiologii
Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

Występującą od przeszło 200 lat i w związku z tym najlepiej poznaną encefalopatią gąbczastą (chorobą prionową) zwierząt jest scrapie, zwana w Polsce trzęsawką lub kołowacizną, występująca u owiec i kóz.

Encefalopatia gąbczasta bydła – określana skrótem literowym BSE od nazwy w języku angielskim (bovine spongiform encephalopathy) – zwana była dawniej chorobą głupich krów lub chorobą szalonych krów. Znana od kilkunastu lat, jest przyczyną licznych i poważnych konsekwencji zarówno zdrowotnych (dla ludzi i zwierząt) jak i ekonomicznych, sięgając głęboko w różne, czasem nawet trudne do przewidzenia dziedziny życia.

Chronologicznie problem przedstawia się następująco:

- W latach 1981–1982 rozpoczęto w Wielkiej Brytanii dodawanie do paszy dla bydła mączki kostno-mięsnej uzyskanej z padliny różnych zwierząt, w tym także owiec i kóz padłych z powodu scrapie, oraz bydła. Przyczyną podjęcia takiego działania była chęć uzyskania większej mleczności krów, która w znacznym stopniu miała być limitowana ilością białka dostarczonego w paszy. W ten sposób zwierzęta roślinożerne zmuszono do spożywania białka zwierzęcego oraz do kanibalizmu zwierzęcego. Fakty niżej przytoczone wskazują, że najprawdopodobniej powtórzyła się wśród zwierząt sytuacja podobna do kuru wśród kanibali w Nowej Gwinei.
- W listopadzie 1986 roku, a więc po 4–5 latach od rozpoczęcia skarmiania bydła mączką kostno-mięsną, doszło do pierwszych zachorowań krów, określanych wówczas chorobą głupich lub szalonych krów, a obecnie BSE.
- Po przeanalizowaniu wyników obserwacji i wyciągnięciu wniosków, w 1988 roku wydano zakaz stosowania w Wielkiej Brytanii mączki kostno-mięsnej uzyskanej z padliny. Nielegalnie była ona jednak w dalszym ciągu przez pewien czas stosowana.
- W 1989 roku wydano zakaz spożywania przez ludzi odpadów poubojowych bydła.
- W Zjednoczonym Królestwie pomiędzy 1986 a 2000 rokiem zanotowano blisko 180 000 przypadków BSE. Najwyższą liczbę zachorowań zanotowano w 1992 roku (37 280). Pomiędzy rokiem 1991 a 1994 roczna liczba zachorowań była wyższa od 20 000. Notowano wówczas przeciętnie 80 zachorowań na BSE dziennie. Wydany w 1988 roku zakaz stosowania mączek mięsno-kostnych dał rezultat w postaci obniżenia liczb zachorowań po 1992 roku, a więc po upływie 4 lat.

Przewiduje się, że epizootcja BSE w Wielkiej Brytanii, jeżeli nie zajdą inne okoliczności, powinna wygasnąć około 2040 roku. Zachorowania bydła na BSE zaczęto obserwować następnie w krajach, które importowały z Wielkiej Brytanii bydło i które importowały paszę z mączką kostno-mięsną. Początkowo zachorowania występowały wśród bydła importowanego, następnie także wśród bydła rodzimego. W 1995 roku zachorowania bydła importowanego z Wielkiej Brytanii zanotowano w Niemczech, we Włoszech, w Danii, w Kanadzie, Omanie i na Wyspach Falklandzkich, a wśród bydła rodzimego we Francji, Portugalii, Irlandii, Szwajcarii. Szczególnie intensywny wzrost liczby krajów, gdzie występują zachorowania rodzimego bydła na BSE, wystąpił w 2000 roku. Pod koniec 2000 roku, spośród krajów zachodnioeuropejskich, BSE występowało wśród bydła rodzimego w Wielkiej Brytanii, Irlandii, Portugalii, Francji, Belgii, Holandii, Danii, Niemczech, Luksemburgu, Lichtensteinie; a wśród bydła importowanego w Kanadzie, na Wyspach Falklandzkich, we Włoszech, w Kuwejcie i Omanie.

Wolne od BSE, spośród krajów Unii Europejskiej, były Szwecja, Finlandia, Austria i Grecja.

Okres wylęgania BSE, jak wynika z powyżej opisanych obserwacji, trwa najczęściej 4–5 lat. Może wydłużać się do 15 lat.

Na podstawie dotychczasowych obserwacji można sądzić, że nie występuje wśród bydła transmisja pozioma zakażeń BSE. Zachorowania obserwuje się u 10% cieląt, jeżeli objawy BSE u matki wystąpią do 5 miesięcy po porodzie, i od 1 do 10% cieląt, jeżeli objawy BSE wystąpią w 6–12 miesięcy po porodzie.

Zachorowania dotyczą w zasadzie bydła starszego od 30 miesięcy. Obserwowano pojedyncze przypadki u bydła w wieku pomiędzy 20 a 30 miesięcy.

Podczas konsultacji Światowej Organizacji Zdrowia, która odbyła się w Genewie w dniach 24–26 marca 1997 roku dokonano określenia zakaźności BSE tkanek i płynów ustrojowych zwierząt. Podzielono je na 4 następujące kategorie:

- Kategoria pierwsza – wysoka zakaźność: mózg, rdzeń kręgowy, gałka oczna.
- Kategoria druga – średnia zakaźność: śledziona, migdałki, węzły chłonne, jelita, odbytnica, płyn mózgowo-rdzeniowy, przysadka, nadnercza, szyszynka, opona twarda, łożysko.
- Kategoria trzecia – niska zakaźność: nerwy obwodowe, śluzówka nosa, grasicca, szpik kostny, wątroba, płuca, trzustka.
- Kategoria czwarta – nie wykryta zakaźność: mięśnie szkieletowe, serce, wymię, mleko, siara, surowica, krew, kał, nerki, tarczyca, ślinianki, jajniki, macica, jądra, nasienie, tkanki płodowe, żółć, kości, chrząstki, tkanka łączna, włosy, skóra, mocza.

Zakażenia człowieka BSE i w konsekwencji zachorowania na wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba (vCJD) są najczęściej wynikiem zakażeń drogą pokarmową w wyniku spożycia tkanek, narządów i innych materiałów pochodzących od bydła. Materiały pochodzenia bydłowego są stosowane w procesie uzyskiwania różnych produktów, zarówno spożywczych jak i innych.

Przykładem takiego produktu spożywczego może być żelatyna, uzyskiwana najczęściej z kości. Kości zakwalifikowane zostały do czwartej kategorii, to jest do materiałów o nie wykrytej zakaźności. W warunkach przemysłowych nie ma jednak możliwości oddzielenia kości długich od szpiku, który zakwalifikowany jest do trzeciej

kategorii, tj. do niskiej zakaźności, a kości czaszki i kręgosłupa od tkanki centralnego układu nerwowego, zakwalifikowanego do pierwszej kategorii, tj. do wysokiej zakaźności. Rzadziej żelatyna wołowa uzyskiwana jest ze skóry, która jest zakwalifikowana do czwartej kategorii i nie budzi tego typu zastrzeżeń. Z tych powodów coraz częściej wykorzystuje się żelatynę pochodzącą od innych zwierząt: wieprzową, drobiową, rybną.

Innym przykładem, mogącym teoretycznie budzić obawy zakażenia, są niektóre szczepionki. Materiały pochodzenia bydlęcego w produkcji niektórych szczepionek wykorzystywane są w procesie namnażania drobnoustrojów. Są one w miarę dokładnie usuwane z produktu końcowego, w ten sposób, że w szczepionkach materiały bydlęcego pochodzenia są niewykrywalne lub wykrywane w śladowych ilościach. Jest to jeden z głównych kierunków działania stosowanego od dawna dla zminimalizowania odczynów poszczepiennych.

W produkcji niektórych szczepionek wirusowych, jak wyżej wspomniano, na etapie namnażania wirusów stosowane są następujące materiały pochodzenia bydlęcego:

- surowica płodowa lub cielęca. Surowica zaliczana jest do kategorii czwartej, tj. materiałów o nie wykrytej zakaźności. Ponadto wśród płodów i zwierząt młodszych od 20 miesięcy nie stwierdza się zakażenia prionami.
- mleko i produkty otrzymane z mleka (np. laktoza, galaktoza). Mleko również należy do materiałów zakwalifikowanych do czwartej kategorii, tj. do materiałów o nie wykrytej zakaźności.
- żelatyna, której problem omówiono wyżej. Do produkcji szczepionek najczęściej stosuje się 10% żelatyny wołowej i 90% żelatyny wieprzowej.

Ponadto do produkcji niektórych szczepionek bakteryjnych stosowane są następujące materiały pochodzenia wołowego: mięso, łój, hemoglobina, hematyna.

Producenci szczepionek podejmują prace nad zastąpieniem materiałów pochodzenia bydlęcego materiałami od zwierząt nie zapadających na BSE, materiałami uzyskanymi syntetycznie lub drogą fermentacji.

Obecnie natomiast stosowana jest metoda pozyskiwania tych materiałów od bydła nie objętego zakażeniami BSE.

Zasady stosowane w tym celu zmieniły się w miarę upływu czasu. W latach osiemdziesiątych pobierano materiał nawet od bydła brytyjskiego lecz z hodowli, gdzie nie występowały zachorowania na BSE. W dalszym etapie eliminowano z produkcji materiały bydlęce z krajów, gdzie występowały zachorowania na BSE wśród bydła rodzimego, następnie z krajów, gdzie występowały zachorowania wśród bydła z subkontynentu, tj. z Europy Zachodniej. Obecnie materiały bydlęcego pochodzenia stosowane do produkcji szczepionek pozyskiwane są z hodowli bydła w Stanach Zjednoczonych Ameryki Północnej, Australii, Nowej Zelandii, Tajwanu, Chin, Japonii.

Na podstawie przeglądu dokumentacji produkcyjnej można wypowiedzieć się, że do tej pory nie zaszło zagrożenie epidemiologiczne szerzenia się BSE przez preparaty szczepionkowe. Wydaje się jednak konieczne przyspieszenie prac nad rezygnacją z materiałów bydlęcego pochodzenia w procesie produkcyjnym szczepionek.

Materiały pochodzenia bydlęcego dodawane są także do kosmetyków i różnych produktów żywnościowych jak cukierki, jogurty itp.

W Polsce ustawa z 24 kwietnia 1997 roku o zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, badania zwierząt rzeźnych i mięsa oraz o inspekcji weterynaryjnej (Dz.U. Nr 60, poz. 369 z 1997 r.) uznała BSE za chorobę zwalczaną z urzędu.

Drogą rozporządzeń ministra rolnictwa i rozwoju wsi wydano zakaz importu bydła, mięsa wołowego, mączek mięsno-kostnych i innych produktów pochodzących od bydła z krajów gdzie stwierdzano BSE u bydła rodzimego: w 1998 roku z Wielkiej Brytanii, Irlandii i Szwajcarii; w 1999 roku z Portugalii; w 2000 roku stopniowo z Francji (8 listopada), z Belgii, Hiszpanii, Holandii, Niemiec, Danii (24 listopada), z Lichtensteinu i Luksemburga (29 listopada); oraz w styczniu 2001 roku – z Włoch.

W Polsce postanowiono przeprowadzać pośmiertne badania w kierunku BSE bydła następujących grup:

- zwierząt z objawami neurologicznymi z ujemnym wynikiem badania w kierunku wścieklizny (około 200 sztuk rocznie),
- zwierząt padłych (około 1 000 sztuk),
- zwierząt z uboju z konieczności (około 2 000 sztuk),
- zwierząt importowanych z krajów Unii Europejskiej (w latach 1992–2000 zaimportowano 25 335 sztuk),
- losowo 3% bydła starszego od 30 miesięcy (około 15 000 sztuk).

Razem przewiduje się poddanie badaniu ponad 18 200 sztuk bydła rocznie.

W latach poprzednich poddano badaniu ponad 400 sztuk bydła z grup wysokiego ryzyka padłego i z objawami neurologicznymi. Wszystkie wyniki badań dotychczas były ujemne.

* Artykuł zawiera ogólnie dostępne informacje uzyskane z publikacji Światowej Organizacji Zdrowia, informacji prasowych ogólnych i profesjonalnych i z odpowiednich ministerstw, innych urzędów i instytucji, w celu w miarę całościowego udostępnienia tych danych dla osób zainteresowanych.

Adres autora:

Wiesław Magdzik

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

JERZY KULCZYCKI

DIAGNOSTYKA KLINICZNA CHOROBY CREUTZFELDTA-JAKOBA I JEJ ODMIAN

Instytut Psychiatrii i Neurologii

W pierwszej połowie dwudziestego wieku choroba Creutzfeldta-Jakoba (CJD) była uważana za jedną z chorób zwyrodnieniowych ośrodkowego układu nerwowego o występowaniu sporadycznym, z pewnym wpływem czynnika genetycznego, uchwytym u około 10–15% przypadków. Już wówczas zwracano uwagę na duże różnice w symptomatologii klinicznej pomiędzy poszczególnymi chorymi. Zwykle dawały się one wytłumaczyć odmienną lokalizacją zmian neuropatologicznych w mózgu, przy zachowaniu tej samej lub zbliżonej ich struktury. Przyczyna tej różnorodności lokalizacyjnej długo pozostawała nieznana.

Obserwowane przez klinicystów różne zespoły neurologiczne u chorych z potwierdzoną autopsyjnie CJD powodowały wprowadzanie coraz to nowych „syndromologicznych” nazw dla tej samej choroby. Nazw tych było co najmniej kilkanaście. Większość ich była używana krótko, i to tylko przez ich autorów, ale niektóre utrzymały się przez długie lata i stanowiły podstawę do wyodrębnienia kliniczno-neuropatologicznych odmian CJD, np. typ Heidenhaina, charakteryzujący się zmianami w płatach potylicznych mózgu, typ głównie pozapiramidowy ze szczególnym nasileniem zmian w obrębie jąder podstawy i inne.

Duża różnorodność symptomatologii CJD miała i ma do dnia dzisiejszego niekorzystny wpływ na przyżyciową diagnostykę tej choroby, co z kolei utrudnia prowadzenie wiarygodnych analiz epidemiologicznych, ponieważ spora liczba przypadków z negatywnie fałszywymi rozpoznaniem przyżyciowymi wciąż pozostaje nieuchwytna.

Wśród badań pracownianych, które są pomocne w klinicznym rozpoznawaniu CJD wymienia się od wielu lat elektroencefalografię. Typowy, choć nie patognomoniczny zapis EEG, z uogólnionymi, rytmicznymi wyładowaniami krótkich kompleksów fal ostrych i wolnych, jest obecny u ok. 70% osób z pewnym rozpoznaniem CJD. Znacznie większą czułość, choć mniejszą swoistość ma badanie płynu mózgowo-rdzeniowego na obecność białek pochodzenia neuronalnego: proteiny 14–3–3 i gamma-enolazy. Pierwszy z tych związków jest znajdowany u ponad dziewięćdziesięciu procent tych chorych, drugi – nieznacznie rzadziej. Określanie poziomu obu tych substancji w płynie mózgowo-rdzeniowym zostało wprowadzone do diagnostyki klinicznej CJD zaledwie przed pięciu laty (2), a już obecnie duża wartość tej metody jest powszechnie uznana. Wśród badań neurowizualnych pewną rolę odgrywa tu tomografia rezonansu magnetycznego. Po zebraniu większego materiału klinicznego zauważono, że u części osób z CJD (ok. 70%), szczególnie chorujących dłużej (powyżej 10 miesięcy) pojawia się

w obrębie jąder podstawy hiperintensywność sygnału w obrazach T2-zależnych. Zmiana ta nie jest patognomoniczna dla CJD i może być obserwowana w niektórych chorobach zwyrodnieniowych (np. w chorobie Wilsona), ale może potwierdzać kliniczne podejrzenie encefalopatii gąbczastej w przypadkach mniej pewnych.

Badania genetyczno-molekularne oraz zebranie większej liczby przypadków CJD pozwoliły na przeprowadzenie głębszej analizy różnorodności fenotypowej CJD i poznanie przyczyn różnej dynamiki tej choroby (4). Ostatnio przeprowadzono ocenę genotypową i fenotypową 108 osób, z uwzględnieniem w każdym przypadku typu cząsteczki PrP^{sc} (typ 1 o masie 20–21 kd i typ 2 – 18–19 kd) (6). Po zestawieniu typu prionu z możliwościami homozygotycznych i heterozygotycznych układów metioniny i waliny w kodonie 129 genu PrP uzyskano sześć grup chorych, które oznaczono jako MM1, MM2, MV1, MV2, VV1 i VV2. Wśród badanych 70 osób było homozygotami MM i posiadało prion typu 1. Mniej liczna grupa (15 osób) należała do typu VV2, pozostałe – MM2, MV1, MV2 i VV1 obejmowały odpowiednio 3, 8, 10 i 2 pacjentów. Po zestawieniu danych klinicznych oraz wyników badań pracownianych z charakterystyką genetyczno-biochemiczną uzyskano informacje o szeregu znamienych korelacji.

Stwierdzono między innymi, że obniżenie funkcji poznawczych i korowe zaburzenia wzroku występują w pierwszym okresie choroby najczęściej u osób należących do grup MM1 i MV1. Najrzadziej (w 33% przypadków) otępienie rozwijało się u homozygot walina-walina z 2 typem PrP (VV2), ale w grupie tej niezborność mózdkowa występowała od początku choroby u blisko połowy chorych.

Różnice w symptomatologii klinicznej pomiędzy chorymi należącymi do różnych grup genetyczno-biochemicznych zacierały się, oczywiście, w dalszym przebiegu choroby i w okresie końcowym stan neurologiczny wszystkich chorych był podobny. W naszym materiale, który obejmuje ok. 50 osób, obserwowaliśmy to samo zjawisko: niezależnie od objawów początkowych i dynamiki procesu, w finalnym stadium dominowały zaburzenia opuszkowe oraz sztywność pozapiramidowa. Warto tu dodać, że objawy neurologiczne w CJD odznaczają się dużą symetrią. Przypadki o asymetrycznie pojawiających się zaburzeniach ruchowych opisywane są rzadko i zawsze budzą podejrzenie dołączenia się zmian pochodzenia naczyniowego.

W cytowanej wyżej pracy Zerr i wsp. bardzo interesująco przedstawiają się wnioski dotyczące wyników badań pracownianych uzyskanych u pacjentów należących do różnych grup genetyczno-biochemicznych. Badaniem, które wypadło dodatnio u 91% chorych, niezależnie od ich fenotypu, było określanie obecności białka 14–3–3 w płynie m.-rdz. Jedyna grupa o niższym odsetku wyników dodatnich (30%) składała się z osób z charakterystyką MV2. W grupie tej wyniki dodatnie wykazali chorzy wyraźnie młodsi niż pozostali, ale o dłuższym trwaniu choroby.

MRI wykazywało opisywaną już wcześniej hiperintensywność echa w obrazach T2 jąder podstawy, podobną w obu grupach „krańcowych” MM1 i VV2 (1). Pewne znaczenie dla praktyki klinicznej może mieć fakt częstych wyników dodatnich w badaniu MR w grupie heterozygot MV2, w której badania na obecność białka 14–3–3 w płynie m.-rdz. i EEG były często negatywne.

Istotną sprawą dla diagnostyki klinicznej było stwierdzenie dużej dysproporcji pomiędzy występowaniem typowego dla CJD obrazu EEG w grupie homo- i heterozygot MM1 i MV1 – odpowiednio 80% i 75% – a homozygot z walina w kodonie 129, gdzie

wszystkie badania EEG były nietypowe. Obserwacja ta może tłumaczyć wiele rozpoznań klinicznych fałszywie ujemnych u tych ostatnich chorych. Pozostawianie dużej liczby tych pacjentów poza badaniami epidemiologicznymi może być i jest zapewne przyczyną niepełnych danych o zapadalności na CJD, a ponadto wywoływać złudne wrażenie, że na chorobę tę cierpią prawie wyłącznie osoby będące homozygotami MM w kodonie 129 genu PrP. Brak rytmicznych kompleksów fala ostra i wolna jest w przypadkach z grup MV i VV związany zapewne z lokalizacją największych zmian w jądrach podkorowych i w mózdzku, przy względnym zaoszczędzeniu kory mózgu. Jest to zgodne z wynikami badań neuropatologicznych i całkowicie tłumaczy brak typowego zapisu EEG w przypadkach wariantu CJD, w którym umiejscowienie uszkodzeń w mózgowiu jest podobne, a ośpienie występuje z reguły w późnym okresie choroby (6).

Pewną, może bardzo istotną poprawę w klinicznej diagnostyce CJD, może wprowadzić zwiększenie swoistości badania płynu m.-rdz. na obecność białka PrP. Dotychczas badanie to, wykonywane metodą Western immunoblot, miało charakter próby jakościowej. Ostatnio Kenney i wsp. (3) przedstawili swoje wyniki ilościowego określania poziomu tego białka w płynie m.-rdz. metodą ELISA. Jak wiadomo, białko 14-3-3 występuje w płynie m.-rdz. w różnych chorobach infekcyjnych, a również i niektórych innych (glejaki, choroba neuronu ruchowego, choroba Alzheimer). Wymienionym autorom udało się wykazać, że stężenie białka 14-3-3 w płynie jest znacznie wyższe u chorych z CJD niż w przypadkach innych chorób. W badanym przez nich materiale wartości te wynosiły odpowiednio: $28,0 \pm 20,6$ ng/ml i $3,1 \pm 2,9$ ng/ml. Po przeprowadzeniu progu na wysokości 8,3 ng/ml próba ELISA osiąga 97,6 % swoistości dla CJD przy czułości 92,7%. Jeśli te wyniki zostaną potwierdzone, nowy test uzyska wysoką rangę w przyżyciowej diagnostyce klinicznej CJD i wariantu CJD.

PIŚMIENNICTWO

1. Finkenstaedt M, Szudra A, Zerr I, i in. MR imaging of Creutzfeldt-Jakob disease. *Radiology* 1996; 199: 793-8.
2. Hsich G, Kenney K, Gibbs CJ, i in. The 14-3-3 brain protein in cerebrospinal fluid as a marker for transmissible spongiform encephalopathies. *N Engl J M* 1996; 335: 924-30.
3. Kenney K, Brechtel C, Takahashi H, i in. An enzyme-linked immunoabsorbent assay to quantify 14-3-3 proteins in the cerebral fluid of suspected Creutzfeldt-Jakob disease patients. *Ann Neurol* 2000; 48: 395-8.
4. Parchi P, Castellani R, Cappelari S, i in. Molecular basis of phenotypic variability in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 1996; 39: 767-78.
5. Zeidler M, Stewart G, Barraclough C, i in. New variant Creutzfeldt-Jakob disease: neurological features and diagnostic tests. *Lancet* 1997; 350: 903-7.
6. Zerr I, Schulz-Schaefer W, Giese A, i in. Current clinical diagnosis in Creutzfeldt-Jakob disease: identification of uncommon variants. *Ann. Neurol.*, 2000, 48, 323-9.

Adres autora:

Jerzy Kulczycki

Instytut Psychiatrii i Neurologii

Al. Sobieskiego 1/9, 02-957 Warszawa

JACEK MAZUREK

EPIDEMIOLOGICZNE PRZEWIDYWANIE ZAGROŻEŃ CHOROBYMI PRIONOWYMI W POLSCE

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny
Kierownik: Prof. dr hab. med. Wiesław Magdzik

W 1996 r. w Wielkiej Brytanii opisano nową chorobę, określaną obecnie jako wariant choroby Creutzfeldta-Jacoba (vCJD) (1). Wykazano, że przyczyną choroby jest ten sam czynnik, który powoduje encefalopatie gąbczaste u bydła (BSE) (2,3,4). wywołało to obawy o epidemię vCJD wśród ludzi. Potęgowało je prawdopodobne włączenie – w różnej formie – do łańcucha pokarmowego człowieka ponad 450 000 sztuk bydła zakażonego przed listopadem 1989 r. Wtedy wydano zakaz używania do produkcji żywności odpadów poubojowych bydła. Pomimo to do łańcucha pokarmowego wprowadzono dalsze 280 000 sztuk (5).

Pojawienie się u ludzi nowej choroby lub wariantu znanej choroby stanowi poważny problem dla osób zajmujących się zdrowiem publicznym. Stwarza to bowiem potrzebę szybkiej oceny zagrożenia, wprowadzenia właściwych środków kontroli, a także odpowiedniej opieki medycznej. Szczególnie odnosi się to do chorób, których okres wylegania jest nieznan i brakuje testów diagnostycznych umożliwiających ocenę rozpowszechnienia choroby. Gdy okres wylegania trwa lata (a nie dni), oszacowanie rozmiaru epidemii jest wyjątkowo trudne.

Oszacowanie rozmiaru epidemii vCJD napotyka ponadto na znaczne trudności ze względu na krótki okres, jaki minął od pierwszych obserwacji i badań naukowych chorób prionowych. Rozmiary narażenia ludzi zależą od wielu czynników: 1) przebiegu epizoozji BSE (zakażeń i zachorowań), 2) skuteczności zakazu używania do produkcji żywności odpadów poubojowych bydła, 3) zakaźności różnych tkanek i płynów ustrojowych zwierząt, 4) uboju zwierząt w różnym momencie okresu wylegania choroby i 5) rodzaju, ilości spożywanych produktów pochodzenia bydłowego (5, 6). Największa zmienność dotyczy dwóch czynników: zakaźności tkanek i sposobu żywienia.

W Wielkiej Brytanii do końca 1996 r. potwierdzono laboratoryjnie 14 zachorowań na vCJD, z których 13 rozpoznano klinicznie w 1995 i 1996 r. Dane te wykorzystali Cousens i wsp. (5) do stworzenia modelu matematycznego określenia ogólnej liczby osób zakażonych w populacji, w której w latach 95/96 zmanifestowały się przypadki kliniczne oraz w celu oszacowania liczby przypadków zachorowań w nadchodzących latach.

Badacze założyli, że liczba osób zakażonych jest proporcjonalna do liczby przypadków BSE u bydła w danym roku – o ile produkty wołowe są zakaźne dla człowieka na krótko zanim zwierzę rozwinię pełnoobjawową encefalopatię. Rozważono dwa scena-

riusze liczby przypadków BSE. Pierwszy zakładał, że stopień zgłaszalności przypadków BSE nie zmieniał się w czasie. Drugi zakładał dużą zmienność liczby zgłaszanych przypadków BSE z największym zaniżeniem oszacowań na początku epidemii.

Założono również, że okres wylęgania vCJD jest długi i zmienny. Szacowana liczba zakażeń zmieniała się wyraźnie w zależności od przyjętego rozkładu długości okresu wylęgania (logarytmicznie-normalny wartości długości okresu wylęgania, gamma, Weibulla), jego średniej i wariancji (zmienności) i leżała w zakresie od 75 do ponad 80 tys. zachorowań. Największe wartości uzyskiwano gdy przyjęty okres wylęgania był długi a zmienność mała. Duże różnice obserwowano po przyjęciu różnego rozkładu wartości okresu wylęgania. Zastosowanie w obliczeniach rozkładu logarytmicznie-normalnego dawało większe wartości szacowane niż zastosowanie rozkładu gamma. Po zastosowaniu rozkładu Weibulla obserwowano większy przyrost liczby przypadków w okresie wcześniejszym w porównaniu do rozkładów normalnego i gamma, z jednoczesną mniejszą ogólną ich liczbą – rzadko przekraczającą 1 000, a maksymalnie wynoszącą 3 000. Autorzy podkreślili jednak, że wyniki przeprowadzonej analizy mogły być obarczone błędem, bowiem obliczenia oparto o informacje o małej grupie osób przy założeniach, które nie mogły być sprawdzone (5).

Tę analizę pogłębili Ghani i wsp., którzy stworzyli model matematyczny opisujący zależność między rozwojem epizootyki BSE a liczbą zachorowań na vCJD (6). Do modelu włączono dodatkowe zmienne np. oszacowaną liczbę zakażonych zwierząt wprowadzonych do łańcucha pokarmowego człowieka – według czasu jaki upłynął od zakażenia do uboju zwierzęcia, moment rozpoznania zachorowania na vCJD i rozkład wieku pacjentów. Celem badania było określenie zasadniczych parametrów i rozmiarów epidemii vCJD oraz ocena błędów wyliczeń. W modelu zmianom nie podlegały takie zmienne jak: moment rozpoznania zachorowania na vCJD i rozkład wieku pacjentów oraz rozkład czasowy liczby spożytego bydła według czasu jaki upłynął od zakażenia do uboju.

W badaniu wykorzystano informacje o 23 zachorowaniach na vCJD potwierdzonych laboratoryjnie. Chorzy byli w wieku od 19 do 50 lat. Okres wylęgania określono jako czas pomiędzy zakażeniem i zgonem. Przyjęto, że zależy on od genotypu gospodarza, wieku w momencie zakażenia i dawki zakaźnej. Zasadniczym czynnikiem służącym do określenia rozmiaru epidemii vCJD jest narażenie na zakażenie w przeszłości. Ocena takiego ryzyka jest trudna ze względu na złożoność procesu przenoszenia zakażenia i inne czynniki. Z tego powodu w analizie wprowadzono dwa dodatkowe ograniczenia.

Po pierwsze, ponieważ wszyscy chorzy (23 osoby), zgłoszeni do końca 1997 r., byli w kodonie 129 homozygotami metionowymi (MM), co sugerowało zwiększoną wrażliwość na zakażenie i/lub skrócenie okresu wylęgania, analizę ograniczono do tej grupy. Jeśli osoby o innym genotypie są również wrażliwe wówczas uzyskane wyniki zaniżały maksymalną liczbę zachorowań.

Po drugie, autorzy przyjęli, że do zakażenia dochodzi w wyniku spożycia produktów pochodzących od zakażonego bydła. Nie rozważano możliwości przenoszenia vCJD między ludźmi. Narażenie na zakażenie jest zdeterminowane ekspozycją ludzi na zakażone tkanki, a to z kolei zależy od rozwoju epidemii BSE u bydła i wprowadzonych zasad wykorzystania tkanek bydlęcych w produkcji żywności. Na ten rodzaj

ekspozycji wpłynęła liczba ubitych zwierząt – według czasu jaki upłynął od zakażenia do uboju.

Dla potrzeb analizy przyjęto, że zakaźność produktów pochodzenia bydłowego rośnie wykładniczo (od pewnego poziomu wyjściowego) i osiąga maksymalny poziom na końcu okresu wylęgania BSE. Jest to zgodne z obecnie dostępnymi informacjami o BSE i patogenezie pasażowalnych encefalopatii gąbczastych (TSE – transmissible spongiform encephalopathy). Analizowano poziom zakaźności poprzez zmianę wyjściowego stopnia zakaźności i zmianę parametrów funkcji wykładniczej. Czynnikiem wpływającym na wielkość narażenia jest również skuteczność zakazu stosowania do produkcji żywności odpadów poubojowych (analizowana w zakresie od 0% do 100%). Ponadto, analizowano zależność między wiekiem chorych a wrażliwością na zakażenie i długością okresu wylęgania vCJD (wydłużający się z wiekiem).

Ogólna liczba osób zakażonych vCJD zależy od prawdopodobieństwa zakażenia po kontakcie z czynnikiem zakaźnym (β), liczby osób wrażliwych na zakażenie (N) znajdujących się w populacji i liczby zwierząt chorych na BSE, ubitych w trakcie trwania epidemii (A). Średnia liczba osób zakażonych przez jedną, maksymalnie zakaźną sztukę bydła (w okresie trzech miesięcy przed wystąpieniem objawów BSE) wynosić będzie: $r = \beta * N/A$, gdzie A – ogólna liczba zwierząt poddanych ubojowi. Obliczona wartość wskaźnika r określa rozmiary epidemii. Wartość ta zawiera w sobie wpływ innych czynników – zakaźności różnych tkanek pochodzenia wołowego dla ludzi (bariera gatunkowa) i średniej liczby osób spożywających produkty pochodzące od jednej ubitej sztuki bydła. Ponieważ brak jest danych o tych parametrach, oszacowano górny zakres wskaźnika r korzystając z informacji o wielkości produkcji, dystrybucji i konsumpcji produktów wołowych.

Rozkład długości okresu wylęgania przy określonej wartości wskaźnika r nie wpływa na rozmiary epidemii lecz na jej przebieg w czasie. Określona wartość r , ze względu na konieczność zachowania zgodności z informacją o wieku chorych ograniczy zakres wartości długość okresu wylęgania i rozkład zachorowań mogą ograniczyć kształt jego krzywej rozkładu. Również odwrotnie, znana długość okresu wylęgania może ograniczyć możliwe wartości współczynnika r . Ponieważ nieznana jest wartość r , rozkład okresu wylęgania można wykorzystać do oceny rozwoju epidemii. Jeśli rozkład jest szeroki u podstawy i modalna przyjmuje wysokie wartości (rozkład platykurtyczny) – zarejestrowane zachorowania stanowią pierwsze przypadki – wówczas można spodziewać się dużej epidemii. Jeśli rozkład jest wąski (rozkład akrokurtyczny) i modalna przyjmuje małe wartości – zarejestrowane zachorowania stanowią duży odsetek ogółu zachorowań – wówczas spodziewana epidemia jest mała.

Ponieważ rozpoznane zachorowania vCJD wystąpiły u osób w wieku powyżej 53 lat niemożliwe jest opisanie epidemii – zgodnej z pojawiającymi się zachorowaniami – bez założenia, że okres wylęgania, wrażliwość osobnicza i narażenie zależą od wieku. U osób starszych okres wylęgania musi przyjmować wartości większe lub ich wrażliwość osobnicza i narażenie na zakażenie muszą być mniejsze.

Przy ograniczeniu analizy do 23 zachorowań zgłoszonych do 1 stycznia 1998 r., rzeczywista liczba zachorowań na vCJD wahałaby się w granicach od 29 do około 10 mln. Wskazuje to wyraźnie, że prowadzenie analizy na podstawie dostępnych informacji nie daje użytecznych wyników. Zasadniczą kwestią pozostaje, w jaki sposób nowe

zachorowania przyczynią się do właściwego przewidywania rozwoju epidemii. Zależy to jednak od wielkości dawki zakażającej.

PIŚMIENICTWO

1. Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, i in. A new variant of Creutzfeldt-Jacob disease in the UK. *Lancet* 1996; 347: 921-5.
2. Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, i in. Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 1997; 389: 498-501.
3. Collinge J, Sidle KC, Meads J, Ironside J, Hill AF. Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of 'new variant' CJD. *Nature* 1996; 383: 685-90.
4. Hill AF, Desbruslais M, Joiner S, Sidle KC, Gowland I, Collinge J. The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature* 1997; 389: 448-50.
5. Cousens SN, Vynnycky E, Zeidler M, Will RG, Smith PG. Predicting the CJD epidemic in humans. *Nature* 1997; 385: 197-8.
6. Ghani AC, Ferguson NM, Donnelly CA, Hagens TJ, Anderson RM. Epidemiological determinants of the pattern and magnitude of the vCJD epidemic in Great Britain. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 1998; 265: 2443-52.

ZNACZENIE MĄCZEK MIĘSNO-KOSTNYCH A ZAGROŻENIA BSE

Katedra Profilaktyki Weterynaryjnej i Higieny Pasz Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Pod wpływem opinii publicznej oraz w wyniku wzrostu liczby kolejnych przypadków gąbczastej encefalopatii bydła (BSE) w Europie (1), kraje Unii Europejskiej (UE) wprowadziły z dniem 1 stycznia 2001 roku czasowy zakaz (do końca czerwca 2001 roku) stosowania mączek mięsno-kostnych w żywieniu wszystkich zwierząt (Decyzja Rady 2000/766 z 4 grudnia 2000 roku). W Polsce natomiast, pod koniec listopada 2000 roku wprowadzono zakaz importu tych mączek oraz podtrzymano wydane wcześniej rozporządzenie MRiGŻ z dnia 17 marca 1999 r. w sprawie szczegółowych warunków weterynaryjnych wymaganych przy zarobkowym wytwarzaniu, przetwarzaniu, obrocie lub składowaniu niejadalnych surowców zwierzęcych, pasz oraz dodatków do pasz (Dz. U. Nr 30, z dn. 12 kwietnia 1999 r., poz. 295), o zakazie dodawania przetworzonego białka ssaków, do mieszanek paszowych i koncentratów dla przeżuwaczy.

Motywacją do wprowadzenia tego rodzaju postępowania w UE był fakt, że:

- przypadki BSE były odnotowywane u zwierząt urodzonych w roku 1995 i później;
- należało wprowadzić standardy wysokiego przetwarzania przy produkcji materiałów wysokobiałkowych pochodzenia zwierzęcego;
- należało wykluczyć odpady szczególnego ryzyka z łańcucha żywnościowego;
- należało wdrażać czynne formy działania ochronnego mające na celu zapobieganie przypadkom przedostawania się czynnika zakaźnego do łańcucha żywnościowego;
- w celu uniknięcia krzyżowego zanieczyszczenia paszą dla innych gatunków zwierząt;
- z racji niedostatecznych wdrożeń legislacyjnych niektórych Krajów Członkowskich (2).

Chcąc rozważać mączki mięsno-kostne jako wektor choroby BSE należy wcześniej się zastanowić co to są mączki. Wśród produktów wytwarzanych na cele paszowe wyodrębnia się zwykle tzw. pasze objętościowe oraz pasze treściwe. Tradycyjnie pasze treściwe produkowane są w gospodarstwach rolnych i po nieskomplikowanej obróbce mogą być skarmiane na miejscu. Odrębną grupę stanowią uboczne produkty przemysłowego przetwórstwa produktów rolnych i rybołówstwa. Do grupy tej zalicza się produkty uboczne przemysłowego przerobu mięsa i ryb (mączki z krwi, mięsne i mięsno-kostne, mączka rybna). Wspólną cechą tych produktów jest wysoka, sięgająca 60% zawartość białka strawnego w jednostce wagowej oraz racjonalne ich wykorzystanie na cele paszowe wymaga przetwarzania metodami przemysłowymi, czym zajmuje się przemysł paszowy. Dotyczy to szczególnie produktów ubocznych przemysłu mięsnego

i rybnego. Materiały te służą głównie do wytwarzania dodatków paszowych wchodzących w skład wysokobiałkowych koncentratów i superkoncentratów czy premiksów. W skład wyżej wymienionych dodatków paszowych dla trzody chlewnej i drobiu wchodzi głównie mączki pochodzenia zwierzęcego oraz śruty nasion oleistych. Stanowią one od 85 do 90% składu koncentratów. Na pozostałe 10–15% składają się dodatki mineralne oraz środki farmaceutyczne.

Spośród wszystkich dodatków paszowych, tzw. materiałów wysokobiałkowych, to właśnie mączki pochodzenia zwierzęcego są najbardziej wartościowe ze względu na wysoką zawartość białka i ich oczekiwaną jakość zdrowotną. Materiałem do produkcji mączek mięsnych, mięsno-kostnych i z krwi są zwierzęta rzeźne lub ich części uznane przez właściwe służby weterynaryjne za niezdatne do spożycia, zwierzęta padłe, krew, odpady produkcyjne i techniczne, kości, artykuły spożywcze pochodzenia zwierzęcego nie dopuszczone do spożycia. Do produkcji mączek rybnych głównie wykorzystuje się odpady powstające podczas przerobu ryb.

Wystąpienie BSE w Niemczech i wydana Decyzja 2000/766/EEC (2) w sprawie czasowego zakazu (od 01.01.2001) stosowania mączek zwierzęcych w żywieniu zwierząt na terenie UE inspirowane do przeanalizowania możliwości alternatywnego wykorzystywania odpadów zwierzęcych w Polsce. Niezbędne jest wprowadzenie odpowiedniej klasyfikacji odpadów zwierzęcych w aspekcie potencjalnego zagrożenia BSE. Zależnie od klasyfikacji powinno być wdrożone bezpieczne unieszkodliwienie odpadów i dalsze postępowanie z produktami ich przetworzenia (3). Wychodząc naprzeciw wymaganiom UE – Dyrektywa Rady 90/667/EEC, Decyzja 2000/418/EEC i uwzględniając najbardziej aktualne trendy, odpady powinny być sklasyfikowane w trzech grupach:

- I. Odpady niskiego ryzyka wykorzystywane w żywieniu zwierząt, to odpady i produkty zwierzęce, które nie stanowią zagrożenia dla zdrowia ludzi lub zwierząt: – ryby złowione na otwartym morzu z przeznaczeniem na mączkę rybną, świeże odpady z ryb pochodzące z przetwórstwa ryb; – odpady zwierząt rzeźnych pochodzące od zwierząt uznanych za zdatne do spożycia; – skóra, wełna, sierść, pióra, rogi, kopyta, racice, krew pochodzące od zwierząt rzeźnych poddanych badaniu, a także skóry zwierząt futerkowych; – środki spożywcze nie przeznaczone do konsumpcji, ale nie stanowiące zagrożenia zdrowia ludzi; – mleko pozyskane od zdrowych zwierząt.
- II. Odpady wysokiego ryzyka, to odpady nie przeznaczone do żywienia zwierząt, ale po przetworzeniu wykorzystywane powinny być jako materiał opałowy w przemyśle lub spalone bezodpadowo – są to: zwłoki zwierząt za wyjątkiem wymienionych jako SRM, w tym również zwierząt poddanych ubojowi nie w celu konsumpcyjnym i zabitych w trakcie likwidacji choroby zakaźnej, płody i zwierzęta martwo urodzone, odpady poubojowe w tym krew, pochodzące od zwierząt, u których stwierdzono objawy choroby zaraźliwej niebezpiecznej dla ludzi lub zwierząt, nie badane części zwierząt rzeźnych, za wyjątkiem skóry, włosów, sierści, piór, rogów, wełny i krwi, mięso, drób, ryby, dziczyzna i inne produkty żywnościowe pochodzenia zwierzęcego niewłaściwej jakości, zwierzęta rzeźne, dziczyzna, mięso, ryby w tym produkty mleczne przywożone z zagranicy, których jakość nie odpowiada polskim przepisom, ryby wykazujące objawy kliniczne choroby przenoszącej się na ludzi lub zwierzęta, mieszanina odpadów niskiego ryzyka lub ich

produktów z odpadami lub produktami wysokiego ryzyka, zawartość przewodu pokarmowego przeżuwaczy, osad z oczyszczalni zakładów pozyskujących lub przetwarzających odpady wysokiego i niskiego ryzyka, surowce i produkty zawierające pozostałości w ilościach niedopuszczalnych przepisami.

- III. Odpady szczególnego ryzyka (SRM) podlegające wyłącznie spaleni i są to: czaszka w tym mózg, oczy, migdałki, rdzeń kręgowy, jelito biodrowe bydła; czaszka w tym mózg, oczy, migdałki, rdzeń kręgowy owiec i kóz w wieku powyżej 12 m-cy lub z pierwszym siekaczem; a także śledziona wszystkich owiec i kóz bez względu na wiek; mięso mechanicznie odkostnione pozyskane z kości czaszki, kręgosłupa bydła owiec i kóz; zwłoki przeżuwaczy, zwierząt laboratoryjnych, domowych, z ogrodów zoologicznych i cyrków; odpady zwierzęce i produkty żywnościowe zawierające pozostałości i stanowiące, zagrożenie zdrowia ludzi i/lub zwierząt; mieszanina odpadów lub produktów zawierających odpady szczególnego ryzyka; osad z oczyszczalni, z zakładów pozyskujących i przetwarzających SRM – muszą być one przetwarzane w zatwierdzonych zakładach przeznaczonych wyłącznie do tego celu – warunki techniczne muszą być takie jak przy przetwarzaniu odpadów niskiego ryzyka: temperatura 133°C, ciśnienie 3 bary, czas 20 minut, a wielkość rozdrobnienia nie może przekraczać 5 cm – otrzymana mączka i tłuszcz muszą być dowieszone przez producenta bezpośrednio do spalania lub do zatwierzonego miejsca składowania.

Tego rodzaju podział odpadów pochodzenia zwierzęcego ze szczególnym uwzględnieniem odpadów pochodzących od przeżuwaczy jako odpady szczególnego ryzyka są poddane drobiazgowym opracowaniom mającym na celu ich likwidację. Prace te są wykonywane przez „Zespół ds. opracowania branżowego programu restrukturyzacji i modernizacji przemysłu utylizacyjnego w Polsce”, a powołany przy Ministerstwie Rolnictwa i Rozwoju Wsi w dniu 21 lutego 2001 roku. Wdrożenie takiego toku postępowania z odpadami pochodzenia zwierzęcego daje gwarancje wyeliminowania mączek jako czynnika zakaźnego oraz utrzymanie statusu kraju niskiego ryzyka wystąpienia choroby BSE.

Mączki paszowe pochodzenia zwierzęcego odpowiadające wymogom normy są bardzo cenione w żywieniu zwierząt, głównie z racji stosunkowo dużej zawartości białka dobrze trawionego i o korzystnym składzie aminokwasowym. Zalety mączek wiążą się także z zawartością składników specyficznych pozytywnie oddziałujących na przemianę materii u zwierząt, a zatem i na efektywność produkcyjną. Są to między innymi swoiste pochodne aminokwasów jak karnityna, karnozyna, anseryna, tauryna czy inne istotne w procesach transmetylacji, także swoiste tłuszcze złożone, fosfolipidy jak lecytyna, glikolipidy i inne.

Wymagania dotyczące mączek odnoszą się do takich cech jak postać, zapach, rozdrobnienie (przesiew przez sito o oczkach 4 mm), wilgotność (nie więcej jak 10%, a dla mączki z pierza do 11%), zawartość białka ogólnego (od 55% dla mączki mięsnej do 25% dla mączki kostnej i z jaj), zawartość tłuszczu (do 2% dla mączki z livexu i do 10% dla mączki z krwi, z pierza oraz z krwi i pierza), strawność białka (od 65% dla mączki z pierza do 80% dla mączki mięsnej, z livexu i skór), zawartość mocznika (niedopuszczalna) i inne cechy wymienione w tabeli II omawianej normy.

Przydatność mączek dobrej jakości w żywieniu jest uniwersalna, to znaczy są one użyteczne dla wszystkich gatunków zwierząt i w różnych stanach fizjologicznych. Najkorzystniej reagują na nie zwierzęta o intensywnej przemianie materii, zwłaszcza w okresach wczesnego rozwoju, to jest młode oraz o wysokiej zdolności produkcyjnej. Dlatego też, w praktyce mączki są stosowane w bilansowanych dawkach dla drobiu (kurczęta brojlery, kury nioski, indyki), a także świń szczególnie dla prosiąt i tuczników w początkowych fazach tuczu oraz zwierząt reprodukcyjnych. Udział mączek zwierzęcych w dawkach (mieszankach pełnoporcjowych) wynosi od 3 do 10%.

Dawki mączek zwierzęcych mieszczą się w granicach do 10% dawki pasz treściwych. W ostatnim czasie zostały bardzo zastrzone (Decyzja Rady 2000/418/EC z 29 czerwca 2000 roku) przepisy dotyczące utylizacji materiałów pochodzenia zwierzęcego przeznaczonych do produkcji mączek paszowych i ich użytkowania w żywieniu zwierząt. Stan ten jest konsekwencją wystąpienia w Anglii schorzenia zwanego gąbczastą encefalopatią mózgu (BSE) u bydła. Zdiagnozowanie tej choroby wywołało panikę z powodu stwierdzenia dużego podobieństwa klinicznego i patologicznego występujących w Anglii przypadków BSE z chorobą v-Creutzfeldta-Jacoba u ludzi (5). Pojawienie się nowej choroby bydła było wywołane przez ten sam czynnik co scrapie, który został przeniesiony z owiec na bydło. Najprawdopodobniej stało się to poprzez paszę z dodatkiem mączki mięsnej wyprodukowanej z zakażonych owiec, w wyniku nie dopilnowania prawidłowego reżimu technologicznego (obniżenia temperatury i ciśnienia) podczas utylizacji zwłok zwierzęcych i sterylizacji wyprodukowanej mączki. Końcowym wnioskiem posiedzenia Komisji d/s Rolnictwa Unii Europejskiej podczas której zastanawiano się nad dalszym "losem" mączek mięsno-kostnych była decyzja o dopuszczeniu ich w żywieniu drobiu i świń, jednak "materiały wysokiego ryzyka" mają zostać wykluczone przed ich produkcją. Decyzja ta uzyskała moc prawną i weszła w życie od 1 stycznia 1998 roku. Zgodnie z nią, tkanki wysokiego ryzyka są niszczone i nie mogą być sprzedawane do konsumpcji, do produkcji mączek, kosmetyków i farmaceutyków.

Szczególna przydatność mączek zwierzęcych ma miejsce w produkowanych karmach dla zwierząt mięsożernych – lisy, norki, psy i koty. Udział mączek w paszach dla tych zwierząt jest duży i wynosi przeciętnie do 25% (ale nie więcej). Z drugiej strony, karma dla tych zwierząt powinna być produkowana z materiałów niskiego ryzyka z NIEWIELKIM dodatkiem mączek produkowanych z odpadów rzeźnianych a nie utylizacyjnych.

Mączki zwierzęce są wprost niezbędne w paszach dla ryb łososiowatych oraz można je stosować w żywieniu innych ryb i skorupiaków.

W krajach Wspólnot Europejskich najpowszechniej stosowane są jednak mączki mięsne ze świeżych odpadów rzeźnych o zawartości od 40 do 60% białka i niskiej zawartości tłuszczu poniżej 13%. Mimo większej zawartości białka nieco niżej ceni się biologiczną użyteczność mączki z krwi zwłaszcza, że proces suszenia jest dość trudny do przeprowadzenia bez narażenia na niekorzystne zmiany.

Przedmiotem szczególnych i szerszych zastrzeżeń są mączki z padliny tzw. mączki utylizacyjne w pełnym tego słowa znaczeniu. W mączkach tych mogą występować również składniki obniżające i ograniczające ich użyteczność. Niekorzystne cechy wynikają z właściwości materiałów do produkcji i z warunków technologicznych utylizacji. Czynniki niekorzystnymi w mączkach między innymi, są:

- aminy biogenne powstałe z rozpadu, typu gnilnego, białka np.: putrescyna czy kadaweryna, produkty te powstają głównie przy zbyt długim i w niewłaściwych warunkach przetrzymywaniu padliny przed utylizacją;
- niehydrolizowane części keratynowe z pierza, sierści, szczeciny, rogowizny, czy kopyt;
- produkty rozkładu i silnego utleniania tłuszczu;
- zanieczyszczenia mechaniczne;
- zakażenia mikrobiologiczne (bakteriologiczne, wirusologiczne, prionowe czy grzybami pleśniewymi).

Próbując wstępnie zrekapitulować dotychczasowe teoretyczne rozważania można stwierdzić, że mączki utylizacyjne są to produkty paszowe otrzymane w wyniku przetworzenia (utylizacji) odpadów rzeźnianych oraz niestety padłych zwierząt. Można zatem stwierdzić, że mączki utylizacyjne są materiałem czy dodatkiem paszowym o zmiennym wyjściowym składzie materiałowym i w konsekwencji o zmiennej koncentracji składników chemicznych i pokarmowych, zależnym np. od obecności padliny lub innych materiałów użytych do produkcji (przewodów pokarmowych i ich treści).

Producent pasz przemysłowych (tzw. konsument) zainteresowany jest jednak materiałami i dodatkami (np. mączkami) paszowymi o powtarzalnym składzie chemicznym, co umożliwia prawidłowe zbilansowanie receptur i uzyskanie pożądaných wskaźników mieszanek paszowych.

Zadaniem administracji rządowych kraju jak i UE powinno być takie opracowanie przepisów prawnych by wyeliminować z łańcucha żywnościowego (w tym ze środków żywienia zwierząt) padłe zwierzęta oraz materiały mniej wartościowe, warunkowo zdatne czy niezdatne. W efekcie do środków żywienia zwierząt dopuszczane byłyby materiały czy dodatki paszowe uzyskane z odpadów niskiego ryzyka czyli nadających się do spożycia.

Biorąc pod uwagę jakość tych mączek, a szczególnie z punktu widzenia ich jako wektora przenoszącego BSE musimy zdać sobie sprawę, że tak naprawdę to mączki są tylko jednym z wielu czynników mogącym doprowadzić do rozprzestrzenienia się tej epizootii. Z wyników przedstawianych w różnych pracach czy doniesieniach naukowych wynika, że BSE jest chorobą wysoce zakaźną (6) i może być przekazywana w obrębie gatunku drogą inokulacji lub drogą alimentarną, gdy podawany jest materiał zakaźny od chorych zwierząt. Choroby prionowe są zakaźne zarówno drogą naturalną jak i doświadczalną między różnymi gatunkami ssaków, ale transmisję tą bardzo ogranicza tzw. „bariera gatunkowa”(4). Ponieważ jednak nie znamy wszystkich czynników sprzyjających przenoszeniu się prionów z gatunku na gatunek, jak również nie jesteśmy do końca przekonani, że jest to klasyczna zoonoza, musimy wykonywać różne działania prewencyjne przeciw ewentualnemu zapobieżeniu lub jej rozprzestrzenianiu się. W ramach swego rodzaju programów prewencyjnych a dotyczących mączek, powinniśmy:

- Zabronić stosowania mączek zwierzęcych w żywieniu bydła – co w naszym kraju obowiązuje.
- Nie powinno się produkować mączek zwierzęcych z tkanek przeżuwaczy dla innych gatunków z racji obawy o tzw. krzyżowe zanieczyszczenie – jest wprowadzane w naszym kraju.

- Jak najszybciej wprowadzić system sortowania odpadów wysokiego i szczególnego ryzyka we wszystkich zakładach przemysłu spożywczego – jest to stopniowo wprowadzane w naszym kraju.
- Zakłady utylizacyjne likwidujące odpady wysokiego i szczególnego ryzyka powinny być wyłączone z produkcji mączek komercyjnych – jest wprowadzane w naszym kraju.
- Otrzymane mączki z odpadów wysokiego i szczególnego ryzyka nie mogą być alternatywnie likwidowane jako czynnik nawożący ponieważ okres półtrwania jest dosyć długi.
- Mączki otrzymywane z odpadów wysokiego i szczególnego ryzyka powinny być likwidowane przez wykorzystywanie ich jako czynnika energonośnego w elektrowniach czy w cementowniach – jest na etapie wdrażania w naszym kraju.

PIŚMIENNICTWO

1. Gajęcki M. Weterynaria – a higiena środków żywienia zwierząt cz. I. Stan prawny w Unii Europejskiej i w Polsce. *Nowa Wet* 2000; 5: 32–5.
2. Gajęcki M. Bezpieczne środki żywienia zwierząt to bezpieczna żywność pochodzenia zwierzęcego. *Życie Wet* 2000; 75: 514–7.
3. Gajęcki M. Jaki będzie los mączek zwierzęcych? *Życie Wet* 2001; 76: 93–6.
4. Hill A, Joiner S, Linehan J, Desbruslais M, Lantos PL, Collinge J. Replikacja prionu niezależna od bariery gatunkowej u gatunków opornych na zakażenie. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10248–53.
5. Polak MP, Żmudziński JF. Diagnostyka zakaźnych gąbczastych encefalopatii. *Medycyna Wet* 2000; 56: 143–9.
6. Wrathall AE. Risks of transmission of spongiform encephalopathies by reproductive technologies in domesticated ruminants. *Livest Prod Sci* 2000; 62: 287–316.

Adres autora:

Maciej Gajęcki

Katedra Profilaktyki Weterynaryjnej i Higieny Pasz Wydziału Medycyny Weterynaryjnej
 Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie,
 ul. Oczapowskiego 13, 10–718 Olsztyn,
 tel. +48 (89) 5 233 773, tel./fax. +48 (89) 5 233 618,
 tel. kom. +48 602 693 025,
 e-mail: gajeccki@moskit.uwm.edu.pl

DANUTA SEROKA

WYKONAWSTWO SZCZEPIEŃ LUDZI PRZECIW WŚCIEKLIŹNIE W POLSCE W LATACH 1990–1999

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny
Kierownik: prof. dr hab. med. Wiesław Magdzik

Objęcie opieką lekarską ludzi pokąsanych i oślinionych przez zwierzęta chore lub podejrzane o wściekliznę i podanie im immunogennej szczepionki lub surowicy odpornościowej i szczepionki – chroni przed zachorowaniem na wściekliznę.

Praca ta jest kontynuacją analizy wykonawstwa szczepień ludzi przeciw wściekliznie, podjętej w 1980 roku i opublikowanej za okres 1980–1990 (3). Do analizy wykorzystano informacje epizootyczne uzyskane w Głównym Inspektoracie Weterynarii (b. Departament Weterynarii Ministerstwa Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej) oraz dane zawarte w nadesłanych przez WSSE formularzach szczepień 64 817 osób szczepionych przeciw wściekliznie w latach 1990–1999.

W Polsce, od 1990 roku stosowana jest dla ludzi szczepionka importowana z Francji, produkowana przez firmę Pasteur-Merieux-Connaught na linii komórkowej Vero (Imovax Rabies Vero). Szczepionka stosowana jest wg schematu zalecanego przez Komitet Ekspertów d.s. wścieklizny Światowej Organizacji Zdrowia (Ś.O.Z.). Wraz ze szczepionką Vero stosowana była końska surowica odpornościowa, również produkcji francuskiej (12, 13, 14).

Celem tej pracy jest ocena wykonawstwa stosowanych w kraju przez 10 lat szczepień szczepionką Vero pod względem:

- czasu, jaki upływał pomiędzy narażeniem człowieka i podjęciem szczepienia,
- przestrzegania schematu szczepienia zalecanego przez producenta,
- wykorzystania wyników diagnostycznych badań przyżyciowych i laboratoryjnych zwierząt przy ustalaniu wskazań do szczepień człowieka.

W latach 1990–1999 stwierdzono 21 118 przypadków potwierdzonej laboratoryjnie wścieklizny zwierząt, 46 493 przypadków podejrzenia wścieklizny u zwierząt i zaszczepiono przeciw wściekliznie 64 817 osób (tabela I). Liczba osób szczepionych przeciw wściekliznie nie wykazuje tendencji spadkowej, pomimo zmniejszającej się liczby zachorowań zwierząt.

Czas podejmowania szczepienia po narażeniu człowieka jest bardzo ważnym elementem w epidemiologicznej ocenie skuteczności szczepień i organizacyjnej sprawności opieki pasteurowskiej. Ten element wykonawstwa szczepień ilustrują tabele II i III.

Do lekarza szybciej docierają osoby pokąsane przez zwierzęta podejrzane, których nie można potem rozpoznać lub które zabito i nie badano; takie wydarzenia budzą niepokój (tabela III). W ogniskach wścieklizny zwierząt, w ramach ich opracowania,

Tabela I. Wścieklizna zwierząt i szczepienie ludzi przeciw wściekliznie w Polsce w latach 1990–1999 (według 1, 2, 4–11)

Rok	Liczba zwierząt z potwierdzoną wścieklizną	Liczba osób szczepionych narażonych przez zwierzęta			Łączna liczba osób szczepionych
		AB	C	D	
1990	2052	1295	2089	218	3602
1991	2355	1658	2658	307	4623
1992	3097	2077	3102	376	5555
1993	2704	2296	3777	496	6569
1994	2273	1990	3747	503	6240
1995	2023	2004	4378	626	7008
1996	2557	2768	5961	892	9621
1997	1525	1492	5203	871	7566
1998	1348	1408	4989	775	7172
1999	1184	1336	4782	743	6861
Razem	21 118	18 324	40 686	5807	64 817

AB – zwierzęta chore

C – zwierzęta podejrzane (padły, zabite, zaginęły), wścieklizna niewykluczona

D – zwierzęta zdrowe, wścieklizna wykluczona przyżyciowo

Tabela II. Czas rozpoczynania szczepienia u osób narażonych przez zwierzęta chore (AB) w latach 1990–1999 (według 1, 2, 4–11)

Razem szczepionych	Liczba osób szczepionych/w tym z naruszeniem powłok			
	w ciągu 1-go tygodnia	w ciągu 2-go tygodnia	powyżej 2 tygodni	Razem ¹⁾
18 324	9785/2125	6921/1040	1442/176	18 148/3341

¹⁾ w 176 przypadkach brak informacji o czasie szczepienia po narażeniu

Tabela III. Czas rozpoczynania szczepienia u osób narażonych przez zwierzęta podejrzane (C) w latach 1990–1999 (według 1, 2, 4–11)

Razem szczepionych	Liczba osób szczepionych/w tym z naruszeniem powłok			
	w ciągu 1-go tygodnia	w ciągu 2-go tygodnia	powyżej 2 tygodni	Razem ¹⁾
40 686	29 253/26 904	8980/7594	1987/1342	40 220/35 840

¹⁾ w 466 przypadkach brak informacji o czasie szczepienia po narażeniu

Stacje Sanitarno Epidemiologiczne prowadzą dochodzenie epidemiologiczne; poszukiwane są retrospektywnie osoby, które w okresie 10 dni przed zachorowaniem zwierzęcia (okres zaraźliwości w patogenie wścieklizny) były przez to zwierzę pokąsane lub oślinione, co zwiększa liczbę później rozpoczynających szczepienia.

Wkroczenie ze szczepionką po narażeniu na zakażenie wirusem wścieklizny powinno być możliwie szybkie (godziny); nie są jednak określone czasowe granice zaniechania szczepień. Zbyt wiele czynników może mieć znaczenie w indywidualnej odpowiedzi zakażonego organizmu na czas wylęgania choroby (14). Niedopełnieniem schematu szczepienia zalecanego przez producenta stanowi, praktycznie w Polsce zaniechany, problem szczepienia bierno – czynnego (tabela IV). Według zalecenia Ś.O.Z. – surowica przeciw wściekliznie powinna być podawana przy szczególnie ciężkich narażeniach (pokąsania liczne, głębokie, oślinienia błon śluzowych), grożących krótkim okresem wylęgania choroby (14).

Tabela IV. Stosowanie surowicy odpornościowej przeciw wściekliznie w latach 1990–1999 (według 1, 2, 4–11)

Liczba osób szczepionych bierno-czynnie	Liczba osób, którym podano surowicę po pokąsaniu przez zwierzęta		
	AB	C	D
382 ^{1,2)}	187 ³⁾	169 ⁴⁾	26 ⁴⁾

¹⁾ w tym 328 narażonych z naruszeniem powłok

²⁾ 0.6 % wszystkich szczepionych

³⁾ 1 % narażonych przez zwierzęta chore (AB)

⁴⁾ 0.4 % narażonych przez zwierzęta podejrzone (C+D)

Zalecany przez producenta schemat podawania samej szczepionki był przeważnie przestrzegany (tabela V). Najczęściej pomijano ostatnią (przypominającą) dawkę.

Tabela V. Przestrzeganie schematu szczepienia zalecanego przez producenta w latach 1990–1999 (według 1, 2, 4–11)

Liczba osób szczepionych	Liczba osób szczepionych	
	zgodnie z instrukcją szczepień ¹⁾	bez wskazań do szczepień
64 817	63 009 (97%)	7872 (12%)

¹⁾ dawki szczepień w dniach: 0, 3, 7, 14, 28 (90)

Dla 7 872 osób, szczepienie ich przeciw wściekliznie nie było uzasadnione (tabela V). Osoby wykonujące szczepienia często ulegają emocjom towarzyszącym możliwości zakażenia śmiertelną chorobą, nie mają wiedzy o drogach wnikania wirusa wścieklizny do organizmu lub błędnie interpretują wyniki diagnostycznych badań zwierzęcia. Zdarzają się również przypadki wymuszania szczepień przez przerażonych pacjentów.

W latach 1990–1999, wśród 64 817 szczepionych przeciw wściekliznie, 18 324 osoby były narażone przez zwierzęta chore na wściekliznę, potwierdzoną laboratoryjnie badaniem mózgu na obecność wirusa. W grupie 46 493 osób narażonych na szczepienie przez zwierzęta podejrzone – 5 179 osobom przerwano szczepienie na podstawie wyników diagnostyki przyżyciowej i 1 661 osobom – na podstawie ujemnych wyników laboratoryjnych; łącznie – 15% wykluczenia wścieklizny u zwierząt. W 775 przypadkach nie wykorzystano ujemnych wyników diagnostyki przyżyciowej, szczepiąc pacjenta pełną dawką szczepionki lub rozpoczynając szczepienie po okresie obserwacji zwierzęcia. Pozostałe 38 878 osoby poddano pełnemu szczepieniu, ponieważ zwierzęta zadające

obrażenia były niedostępne do badań przyżyciowych i laboratoryjnych. Wykorzystanie wyników badań diagnostycznych przy ustalaniu wskazań do szczepień ilustrują tabele VI i VII. Rutynowa diagnostyka laboratoryjna w kierunku wścieklizny oparta jest na odczynie bezpośredniej immunofluorescencji, której wyniki mogą być niepewne przy gnilnie zmienionym materiale do badań; próba biologiczna na białych myszach trwa zbyt długo, aby zwlekać z rozpoczynaniem szczepień. Wprowadzenie do diagnostyki metody PCR i izolacji wirusa na komórkach hodowli komórkowych byłoby milowym krokiem w możliwościach wykluczania wścieklizny.

Tabela VI. Wpływ diagnostyki przyżyciowej zwierząt (D) na wykonawstwo szczepień ludzi w latach 1990 – 1999 (według 1, 2, 4–11)

Liczba osób szczepionych	Nie przerwano szczepienia	Szczepienie rozpoczęto po narażeniu ¹⁾			
		(D)	do 3 dni	do 6 dni	do 14 dni
5807	175	4539	640	481	119

¹⁾ w 28 przypadkach brak informacji o czasie szczepienia

D – wścieklizna u zwierzęcia wykluczona przyżyciowo

Uwaga: diagnostyka przyżyciowa dotyczy tylko zwierząt domowych

Tabela VII. Wpływ diagnostyki pośmiertnej zwierząt na wykonawstwo szczepień ludzi w latach 1990–1999 (według 1, 2, 4–11)

Liczba osób szczepionych narażonych przez zwierzęta				Razem
Chore (AB) potwierdzenie laboratoryjne	Podjejrzone (C) wykluczenie laboratoryjne	Podjejrzone (C) padłe, zabite brak badań lab.	Podjejrzone (C) zbiegłe, brak badań przyżyciowych i pośmiertnych	
18 324	1847 ¹⁾	4565	34 192 ²⁾	58 928

(AB) – wścieklizna u zwierząt potwierdzona

(C) – zwierzę podejrzane o wściekliznę

¹⁾ szczepienie przerwano w 1661 przypadkach

²⁾ szczepiący nie zebrali wywiadu o zwierzęciu w 82 przypadkach

Szczepionka Vero, przez 10 lat jej stosowania okazała się preparatem całkowicie bezpiecznym pod względem neurologicznym (tabela VIII). W ułamku procenta występowały słabo wyrażone i szybko przemijające odczyny ogólne i miejscowe. Przypadek uogólnionej wysypki alergicznej z wysoką gorączką i dużym obrzękiem miejscowym zarejestrowano u dziecka szczepionego bierno-czynnie. Lakoniczna informacja w ankiecie nie pozwala na analizę dwóch przypadków zarejestrowanych jako wstrząs; w jednym nastąpiła chwilowa utrata przytomności (omdlenie?), w innym – objawy niepokoju i duszność u dziecka po podaniu kolejnej dawki szczepionki.

Sprawa szczepień zapobiegawczych osób narażonych zawodowo na zakażenie wścieklizną jest nadal w kraju rozwiązywana indywidualnie przez zainteresowanych. W prze-

Tabela VIII. Odczyny poszczepienne po szczepionce Vero w latach 1990–1999
(według 1, 2, 4–11)

Liczba zaszczepionych osób	Liczba osób u których wystąpił odczyn				
	miejscowy	ogólny	alergiczny	wstrząś?	neurologiczny
64 817	153	105	19 ¹⁾	2 ²⁾	0

¹⁾ jeden przypadek uogólnionej wysypki z wysoką gorączką i miejscowym obrzękiem po szczepieniu bierno-czynnym

²⁾ utrata przytomności, duszność, niepokój po podaniu kolejnej dawki

pisach wykonawczych do nowej przyszłej ustawy o chorobach zakaźnych ta sprawa powinna znaleźć swoje miejsce.

PODSUMOWANIE

W latach 1990–1999, 64817 osób zostało zaszczipionych przeciw wścieklicznie szczepionką Imovax Rabies Vero. Szczepionka typu Vero przez 10 lat jej stosowania okazała się preparatem bezpiecznym i skutecznym, również w przypadkach późnego rozpoczęcia szczepień i pomijania surowicy odpornościowej. Na skuteczne wyniki szczepień niewątpliwym wpływ – obok wysokiej wartości immunogennej szczepionki – miała przeżycie lekkich narażeń przez zwierzęta chore (oślinienia) oraz niewielkie prawdopodobieństwo wściekliczyny wśród szczepionej zapobiegawczo populacji psów. Psy najczęściej narażają ludzi na szczepienie w kategorii podejrzenia o zakażenie. Większe prawdopodobieństwo zakażenia istnieje przy pokąsaniu przez nieszczepione koty. Osoby odpowiedzialne za kwalifikowanie do szczepienia powinny odbywać przeszkolenie w zakresie epidemiologii, patogenez i diagnostyki wściekliczyny. Do rutynowej laboratoryjnej diagnostyki wściekliczyny należy wprowadzić szybką metodę izolacji wirusa na hodowlach komórkowych (komórki neuroblastomy) i metodę PCR, co ułatwi diagnostykę w przypadkach wątpliwych wyników immunofluorescencji bezpośredniej.

PIŚMIENNICTWO

- Sadkowska M, Seroka D, Łabuńska E. Wściekliczna w 1993 roku. *Przegl Epidemiol* 1995; 49: 169–78.
- Sadkowska M, Łabuńska E. Wściekliczna w 1994 roku. *Przegl Epidemiol* 1996; 50:173–85.
- Seroka D. Kwalifikowanie ludzi do szczepień przeciw wścieklicznie i wykonawstwo szczepień w Polsce w latach 1980–1990. *Przegl Epidemiol* 1992; 46: 211–20.
- Seroka D, Łabuńska E, Reizer A. Wściekliczna w 1990 roku. *Przegl Epidemiol* 1992; 46: 115–22.
- Seroka D, Łabuńska E, Koncki A. Wściekliczna w 1991 roku. *Przegl Epidemiol* 1993; 47: 147–55.
- Seroka D, Łabuńska E. *Przegl Epidemiol* 1994; 48: 133–42. Wściekliczna w 1992 roku.
- Seroka D, Łabuńska E, Sadkowska M. Wściekliczna w 1995 roku. *Przegl Epidemiol* 1997; 51: 143–52.
- Seroka D, Łabuńska E, M. Sadkowska-Todys. Wściekliczna w 1996 roku. *Przegl Epidemiol* 1998; 52: 117–28.
- Seroka D, Sadkowska-Todys M, Łabuńska E. Wściekliczna w Polsce w 1997 roku. *Przegl Epidemiol* 1999; 53: 137–49.
- Seroka D, Łabuńska E. Wściekliczna w 1998 roku. *Przegl Epidemiol* 2000; 54: 157–69.

11. Seroka D, Łabuńska E. Wścieklizna w 1999 roku. Przegl Epidemiol 2001; 55: (w druku).
12. Seroka D, Wysokińska T. Szczepionka przeciw wściekliznie w „Szczepionki i Immunoglobuliny” pod red. W. Magdzika, PZWL, W-wa, 1999, 117.
13. Seroka D, Wysokińska T. Immunoglobulina przeciw wściekliznie, w „Szczepionki i Immunoglobuliny” pod red. W. Magdzika, PZWL, W-wa, 1999, 204.
14. WHO Expert Committee on Rabies, Eight Report, WHO, Geneva, 1992.

Adres autorki:

Danuta Seroka

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

DANUTA SEROKA

ZAGROŻENIE LUDZI WŚCIEKLIZNĄ W POLSCE

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

Kierownik: prof. dr hab. med. Wiesław Magdzik

Praca stanowi kontynuację badań prowadzonych w Zakładzie Epidemiologii PZH, oceniających wpływ sytuacji epizootologicznej wścieklizny na kształtowanie się problemów epidemiologicznych wścieklizny w kraju (2,3).

W pracy wykorzystano dane epizootyczne za lata 1995–1999, udostępnione przez Główny Inspektorat Weterynarii (dawny Departament Weterynarii Min. Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej), oraz informacje zawarte w 38 228 ankietach osób szczepionych w tym okresie; ankiety nadeszły WSSE z terenu całego kraju. Ankieta osoby szczepionej przeciw wściekliźnie, opracowana według wzoru proponowanego przez Komitet Ekspertów d.s. wścieklizny Światowej Organizacji Zdrowia (Ś.O.Z.), zawiera informacje niezbędne dla oceny zagrożenia wścieklizną przez zwierzęta domowe i dzikie oraz dla oceny wykonawstwa szczepień pod względem ich bezpieczeństwa, skuteczności i organizacji (9). Wyniki analizy były prezentowane i omawiane z kolegami ze Stacji Sanitarnej Epidemiologicznych na kursach specjalistycznych oraz przesyłane do Ś.O.Z.

Definicja zagrożenia człowieka wścieklizną mieści w sobie dwa pojęcia:

- 1) możliwość zakażenia przez pokąsanie lub oślinienie przez zwierzę będące w okresie zaraźliwości i wydalające wirus ze śliną oraz
- 2) możliwość zachorowania na wściekliznę osoby zakażonej.

„Spotkanie” tych dwóch możliwości, dające w wyniku śmierć człowieka rozdziela podana po zakażeniu szczepionka lub surowica odpornościowa i szczepionka.

Możliwość zakażenia człowieka wścieklizną zależy od następujących czynników:

- obecności zwierzęcych źródeł zakażenia, ich aktywności i bliskości środowiska człowieka,
- stopnia narażenia człowieka, rozległości obrażeń zadanych przez zwierzę,
- zapobiegawczego szczepienia osób szczególnie narażonych na zakażenie,
- informowania ludności o sposobie unikania zakażenia,
- egzekwowania od właścicieli obowiązku szczepienia posiadanych psów i kotów,
- konsekwentnie prowadzonych akcji szczepienia dzikich zwierząt.

Źródłem zakażenia wścieklizną, w znaczeniu epizootologicznym, są zwierzęta zdolne zapewnić wirusowi krążenie w przyrodzie; są to zwierzęta ze swej natury zadające pokąsania. Źródłem zakażenia w pojęciu epidemiologicznym jest każde zwierzę wydzielające wirus ze śliną, zdolne do ugryzienia lub oślinienia człowieka. Źródłem

zakażenia może być również materiał zakaźny – np. tkanka mózgowa zakażonego zwierzęcia.

Na terenie kraju aktywnym źródłem zakażenia dla innych zwierząt dzikich i zwierząt domowych są lisy rude i jenoty (tabela I). Obserwacja epizootologiczna i analiza genetyczna krążących szczepów wirusa wskazują, że małe drapieżniki oraz gryzonie są „odbiorcami” zakażenia. Źródłem niezależnym od innych zwierząt są nietoperze, mroczki późne, zakażone 5 genotypem wirusa wścieklizny (1). Można przypuszczać, że na pn.-wsch. obszarze kraju wścieklizna wśród mroczków późnych (*Eptesicus serotinus*) występuje endemicznie. Pełnych badań wirusologicznych wymagają przypadki stwierdzonej wścieklizny u wiewiórek – problemu niedocenianego przez Zakłady Higieny Weterynaryjnej. Wścieklizna wiewiórek może być wynikiem „styku „tych nadrzecznych zwierząt z nietoperzami.

Tabela I. Zwierzęce źródła zakażenia i szczepienie ludzi przeciw wściekliznie w latach 1995–999 (według 4–8)

Zwierzę	Liczba zwierząt z potwierdzoną wścieklizną	%	Liczba osób szczepionych przeciw wściekliznie	%
a) pies *	440	5,0	23 676	62
a) kot **?	599	7,0	5 516	14
a) lis rudy **	5 820	67,0	2 960	8
jenot *	578	7,0	207	0,5
nietoperz **	11		130	0,3
kuna, łasica, tchórz ***?	281	3,0	577	1,5
borsuk ***?	68	0,8	69	0,2
wiewiórka ***?	14		375	1
gryzoń (szczury, myszy, piżmaki)	8		1 131	3
Dzikie zwierzę roślinożerne	126	1,6	606	1,5
Zwierzę hodowlane	675	8,0	2 370	6
inne ¹	16		611	1,5
Łącznie	8 636	99,4	38 228	

* rezerwuary i źródła zakażenia wścieklizny miejskiej

** rezerwuary i źródła zakażenia wścieklizny leśnej

¹ pojedyncze przypadki chorych wilków, kretów, jeży, zajęcy, dzików, rysi

^a malejące liczby zachorowań

Masowe zapobiegawcze szczepienia psów ograniczyły wściekliznę psów do rzędu kilkudziesięciu zachorowań rocznie, będących wynikiem zaniedbania przez właścicieli warunków bytowych zwierząt i obowiązku ich szczepienia. Szczepy izolowane od psów należą do wariantów wirusa lisa i jenota (1). Koty, podobnie jak małe leśne drapieżniki są również „odbiorcami” zakażenia, stając się niebezpiecznym źródłem zakażenia dla człowieka. Na terenach wolnych od wścieklizny psów i lisów nie chorują również koty.

Liczby zachorowań poszczególnych gatunków zwierząt są odwrotnością liczby ludzi narażonych na szczepienie przez te zwierzęta: 82% szczepionych osób było narażonych przez zwierzęta domowe, w tym w 76% – przez psy i koty. Pies jest aktywnym siewcą wścieklizny w środowisku udomowionym poprzez naturalną zdolność kąsania, wzmożoną agresję w klinicznym przebiegu choroby, bliskość kontaktu z człowiekiem i zwierzętami domowymi. W krajach gdzie panuje epizootia wśród psów, nie daje się uniknąć zakażeń i zachorowań wśród ludzi.

W latach 1995–1999, wśród 38 228 osób szczepionych przeciw wściekliznie, 9 008 było narażonych w ogniskach przez chore zwierzęta (tabela II). Nie wszystkie chore zwierzęta miały kontakt z człowiekiem i naraziły go na szczepienie: tylko 30% zwierząt z rozpoznaną wścieklizną, w tym 1 252 dzikich i 1 399 domowych było przyczyną szczepienia ludzi. W ognisku znajduje się przeważnie 1 chore zwierzę narażające średnio 3,4 osoby na szczepienie. Narażenie ludzi w ogniskach nie było groźne, pokąsanych było 1 437 osób, w tym 109 odniosło głębokie obrażenia. Pozostali szczepieni nie mieli obrażeń ciała. Najwięcej obrażeń w ogniskach ludzie doznają ze strony chorych psów i kotów (tabela III).

Tabela II. Narażenie ludzi na zakażenie w ogniskach wścieklizny (AB) w latach 1995–1999 (według 4–8)

Liczba chorych zwierząt, które naraziły ludzi na szczepienia*		Liczba osób szczepionych w ogniskach**	
dzikich (%)	domowych (%)	z uszkodzeniem powłok (%)	bez uszkodzenia powłok (%)
1252 (18)	1399 (82)	1437 (16)	7571 (84)

* W latach 1995–1999 stwierdzono wściekliznę u 8636 zwierząt, w tym u 6922 zwierząt dzikich i 1714 domowych

** W latach 1995–1999 zaszczepiono w ogniskach 9008 osób

Tabela III. Zwierzęta narażające ludzi na zakażenie w ogniskach wścieklizny (AB) w latach 1995–1991¹ (według 4–8)

Zwierzę Rodzaj narażenia	Liczba osób narażonych w ogniskach przez				Razem
	psy i koty	zwierzęta hodowl.	zwierzęta dzikie*	zwierzęta dzikie**	
podrapania, pokąsania	959	149	315	14	1437 ²
kontakt pośredni, dotykanie skóry, oślinienie	2945	1952	2465	209	7571
Razem	3904	2101	2780	223	9008

* lis, borsuk, jenot, kuna, piżmak, wilk, tchórz, wiewiórka, nietoperz, szczur, mysz, chomik, kret

** sarna, zając, dzik

¹ w latach 1995–1999 zaszczepiono w Polsce przeciw wściekliznie 38228 osób.

² w tym 109 (7%) pokąsań głębokich

Najtrudniejszym rozdziałem zapobiegania wścieklicznie ludzi w Polsce jest problem narażenia przez zwierzęta podejrzane przez chorobę, które pokąsały lub ośliniły człowieka i u których nie można było wykluczyć choroby (zagięły, padły, zabite, nie badane) (tabela IV). W 3 907 przypadkach (10%) narażenia przez zwierzęta domowe, wścieklicznę można było wykluczyć u zwierzęcia przyżyciowo (kat. D) i przerwać szczypanie człowieka.

Tabela IV. Narażenie ludzi przez zwierzęta podejrzane o wścieklicznę (C) w latach 1995–1999 (według 4–8)

Liczba osób narażonych przez						
Zwierzę Rodzaj narażenia	psy i koty	Zwierzęta hodowl.	zwierzęta dzikie*	zwierzęta dzikie**	zwierza nierozp.	Razem 1) 2)
Podrapania i pokąsania	20 141	52	2120	251	168	22 732
Kontakty pośrednie, dotykanie skóry, oślinienia	1312	183	670	373	18	2556
Razem	21 453	235	2790	624	186	25 288

¹⁾ nie brano pod uwagę ankiet z brakiem danych o narażeniu – łączna liczba szczepionych w kategorii C wynosiła 25 313 osób.

²⁾ w latach 1995–1999 zaszczepiono w Polsce przeciw wścieklicznie 38 228 osób.

Zwierzęta podejrzane o wścieklicznę nie są obecne w rejestrze weterynaryjnym. Przeciwnie, jedno zwierzę podejrzane naraża jedną osobę; dodając więc do liczby 8 636 zwierząt z potwierdzoną wściekliczną 29 220 zwierząt podejrzanych (C+D) – można ocenić, że w latach 1995–1999, 38 556 zwierząt, w 82% domowych, zagrażało ludziom. Wśród zwierząt podejrzanych dominują psy i koty, które też zadają najczęściej obrażeń. Liczba osób szczepionych z powodu niewykluczenia wściekliczny utrzymuje się wciąż na wysokim poziomie, również na terenach, na których masowe doustne szczepienia zwierząt dzikich ograniczyły lub nawet eliminowały wścieklicznę zwierząt domowych i dzikich.

Ogniska wściekliczny zwierząt występują częściej w środowisku wsi i małych miast (tabela V). Ludność miejska ma mniej okazji kontaktu z chorymi zwierzętami; narastająca w kraju wściekliczna nietoperzy może tę sytuację zmienić. W skupiskach miejskich dominują pokąsania przez zwierzęta podejrzane.

Bardziej istotne z socjologicznego niż epidemiologicznego punktu widzenia są informacje zawarte w tabelach VI i VII dotyczące pory roku szczypania ludzi przeciw wścieklicznie oraz wieku i płci osób szczepionych. Przewagę w kolizji ze zwierzętami mają zwykle mężczyźni; okres wiosny, lata i wczesnej jesieni w naturalny sposób sprzyja kontaktom ludzi i zwierząt.

Tabela V. Szczepienie ludzi przeciw wścieklicznie w mieście i na wsi w latach 1995–1998 (według 4–8)

Liczba osób szczepionych z powodu zwierząt				
	AB	C	D	Razem
miasto	1470	16 063	2063	19 596
wieś	7538	9250	1844	18 632
Razem	9008	25 313	3907	38 228

AB – wściekliczna u zwierzęcia potwierdzona laboratoryjnie lub klinicznie.

C – wściekliczna u zwierzęcia niewykluczona; zwierzę zaginęło, padło, zabite, nie badane

D – wściekliczna u zwierzęcia wykluczona przyżyciowo

Tabela VI. Wiek i płeć osób szczepionych przeciw wścieklicznie (AB+C+D) w latach 1995–1999 (według 4–8)

Płeć	Wiek			Razem
	0–6	7–18	> 18	
Mężczyźni	1 917	7 489	12 740	22 146
Kobiety	1 566	5 166	9 350	16 082
Razem	3 483	12 655	22 090	38 228

AB – narażło zwierzę z potwierdzoną wściekliczną

C – narażło zwierzę z niewykluczoną wściekliczną

D – narażło zwierzę z wykluczoną przyżyciowo wściekliczną

Tabela VII. Sezonowość szczepień ludzi przeciw wścieklicznie w latach 1995–1999 (według 4–8)

Liczba osób szczepionych z powodu zwierząt				
Kwartał	AB	C	D	Razem
I	2 209	5 702	775	8 686
II	2 420	8 219	1 356	11 995
III	2 121	7 199	1 247	10 567
IV	2 258	4 193	529	6 980
Razem	9 008	25 313	3 907	38 228

PODSUMOWANIE

Głównym źródłem zakażenia wściekliczną na terenie kraju wciąż pozostaje lis rudy. Jednocześnie rozszerza się terytorialny zasięg wściekliczyny nietoperzy, której rezerwuarem jest mroczek późny (*Eptesicus serotinus*), zakażony 5 tym genotypem wirusa wściekliczyny. Tylko 30% zwierząt z rozpoznaną chorobą było przyczyną szczepienia ludzi, spośród których 15% miało naruszenie powłok ciała przez chore zwierzęta. Na kontakt z chorymi zwierzętami narażona jest głównie ludność wsi i małych miast.

Aktualnie, najtrudniejszym problemem w epidemiologii wściekliczyny jest ustalanie prawidłowych wskazań do szczepień w przypadkach narażenia przez podejrzone o za-

każenie psy i koty, u których nie można wykluczyć wścieklizny, a które stanowią margines w obecnej epizootii.

PIŚMIENNICTWO

1. Sadkowska-Todys M. Ocena pokrewieństwa szczepów wirusa wścieklizny izolowanych w Polsce. *Med Dośw Mikrobiol* 2000; 52: 173-85.
2. Seroka D. Czynniki kształtujące stan zagrożenia ludzi wścieklizną w Polsce. *Przegl Epidemiol* 1993; 47: 209-15.
3. Seroka D. Zwierzęce źródła zakażenia wścieklizną w Polsce w latach 1985 - 1994. Tendencje epizootiologiczne i dynamika ognisk w okresie wprowadzania doustnych szczepień zwierząt dzikich. *Przegl Epidemiol* 1995; 49: 227-35.
4. Seroka D, Łabuńska E, Sadkowska M. Wścieklizna w 1995 roku. *Przegl. Epidemiol* 1997; 51: 143-52.
5. Seroka D, Łabuńska E, Sadkowska-Todys M. Wścieklizna w 1996 roku. *Przegl Epidemiol* 1998; 52:117-28.
6. Seroka D, Sadkowska-Todys M, Łabuńska E. Wścieklizna w Polsce w 1997 roku. *Przegl Epidemiol* 1999; 53: 137-49.
7. Seroka D, Łabuńska E. Wścieklizna w 1998 roku. *Przegl Epidemiol* 2000; 54: 157-69.
8. Seroka D, Łabuńska E. Wścieklizna w 1999 roku. *Przegl Epidemiol* 2001; 55: (w druku).
9. WHO. WHO Expert Committee on Rabies, Eight Report. Geneva,1992.

Adres autorki:

Danuta Seroka

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

PRZYŻYCIOWA DIAGNOSTYKA WŚCIEKLIZNY U LUDZI W POLSCE

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny
Kierownik: Prof. dr hab. Wiesław Magdzik

Według danych Światowej Organizacji Zdrowia każdego roku notuje się na świecie około 50 000 przypadków wścieklizny ludzi. Większość z nich występuje w krajach rozwijających się, gdzie głównym rezerwuarem wirusa jest pies (1).

Skuteczna profilaktyka wścieklizny u ludzi powinna obejmować takie elementy jak:

- szczepienie zwierząt zarówno domowych jak i dzikich,
- stosowanie odpowiednich programów kwarantannowych dla zwierząt,
- właściwy nadzór epidemiologiczny nad ogniskami wścieklizny z czym wiąże się sprawny przepływ informacji pomiędzy służbami weterynaryjnymi i sanitarnymi o wykrytych przypadkach wścieklizny zwierząt,
- stosowanie u osób narażonych bezpiecznych, wysoce immunogennych szczepionek produkowanych na hodowlach komórkowych oraz specyficznej immunoglobuliny.

Dzięki zastosowaniu odpowiednich strategii zapobiegania wściekliznie, w krajach rozwiniętych choroba ta u ludzi występuje bardzo rzadko. Jednak w ostatnich latach niektóre kraje odnotowują wzrost zachorowań wśród ludzi. Na przykład we Francji w latach 1988–1997, odnotowano 7 przypadków zachorowania ludzi na wściekliznę podczas gdy w ciągu wcześniejszych 20 lat było ich tylko 8. Wszystkie przypadki wścieklizny ludzi były zawleczone (importowane). Podobna sytuacja występuje we wszystkich krajach Unii Europejskiej – na 15 przypadków zachorowań ludzi na wściekliznę w ciągu 10 lat, 12 było importowanych z Azji, Afryki i Ameryki Łacińskiej (2). Również wzrost liczby zachorowań ludzi na wściekliznę odnotowano w Stanach Zjednoczonych. W latach 1980–1996 wystąpiły 32 zachorowania ludzi na wściekliznę, z czego 12 było importowanych, a 17 chorych było zakażonych szczepem wirusa pochodzącym od nietoperzy, natomiast tylko w 3 przypadkach był to wariant wirusa izolowany od rodzimych zwierząt naziemnych (3). Ponadto tylko w roku 2000 odnotowano 5 przypadków wścieklizny u ludzi z czego od czterech osób izolowano wariant nietoperzowy wirusa wścieklizny, a 1 przypadek był importowany z Afryki (4).

Kliniczna diagnostyka wścieklizny jest łatwiejsza gdy poparta jest wywiadem epidemiologicznym (dane na temat ekspozycji) lub gdy występują objawy charakterystyczne dla tej choroby takie jak np. hydrofobia, aerofobia, ślinotok (5). Jednak często objawy występujące w przebiegu wścieklizny są na tyle podobne do objawów innych chorób, zarówno zakaźnych jak i nie zakaźnych, przebiegających z zapaleniem mózgu, że kliniczne rozpoznanie wścieklizny jest niemożliwe. Na przykład na 32 osoby zmarłe na wściekliznę w latach 1980–1996 w USA aż u 12 osób obraz kliniczny nie nasuwał

podejrzenia o zachorowanie na wściekliznę i była ona zdiagnozowana dopiero pośmiertnie (3).

Dlatego, choć występująca rzadko, wścieklizna powinna być brana pod uwagę, w każdym przypadku gdy u pacjenta występuje ostre, postępujące zapalenie mózgu. Również z tego powodu niezbędne jest zastosowanie technik laboratoryjnych pozwalających na przyżyciową diagnostykę wścieklizny.

PRZYŻYCIOWA, LABORATORYJNA DIAGNOSTYKA WŚCIEKLIZNY

Zachorowanie na wściekliznę można stwierdzić wykrywając antygen wirusa, przeciwciała neutralizujące, izolując kwas nukleinowy wirusa i/lub izolując wirusa (6).

Wykrywanie antygeny wirusa wścieklizny przeprowadza się metodą bezpośredniej immunofluorescencji, poszukując go w preparatach odciskowych z rogówki i ze śliny oraz w preparatach przygotowanych z bioptatów skóry, pobranej z karku na wysokości linii włosów. Wściekliznę można również zdiagnozować stwierdzając obecność neutralizujących przeciwciał w surowicy (u ludzi nie szczepionych) i płynie mózgowo-rdzeniowym osób zakażonych. Ponadto można ją potwierdzić izolując kwas nukleinowy wirusa ze śliny oraz izolując wirusa ze śliny na hodowlach komórkowych lub na oseskach mysich (2, 6, 7). Żaden test stosowany w diagnostyce przyżyciowej wścieklizny nie jest w 100% wiarygodny. Stwierdzono także, że czułość poszczególnych metod jest bardzo różna.

Najczulszym testem jest, test wykrywający antygen wirusa metodą immunofluorescencji bezpośredniej w bioptatach skóry karku. Czułość tej metody wynosi od 50 do 94% i wzrasta wraz z czasem trwania choroby (6). O podobnej czułości jest test wykrywający w ślinie kwas nukleinowy wirusa wścieklizny (metoda RT-PCR) (2). Głównym ograniczeniem tej metody jest to, że wydzielanie wirusa w ślinie nie jest stałe oraz może on pojawić się już na drugi dzień po wystąpieniu objawów choroby. Również niekiedy obecność wirusa w ślinie można stwierdzić dopiero 24 dnia od momentu wystąpienia pierwszych objawów (2, 6).

Czułość testu, wykonanego na zwierzętach, w którym antygeny wirusa poszukuje się w odcisku z rogówki, określono na 46% (6). W przypadku zastosowania go w diagnostyce wścieklizny ludzi, jeden z badaczy uzyskał negatywne wyniki testów u wszystkich ośmiu pacjentów zmarłych na wściekliznę (7).

Wścieklizna może być także zdiagnozowana poprzez stwierdzenie obecności przeciwciał neutralizujących w surowicy krwi lub w płynie mózgowo-rdzeniowym. Wadą tej metody jest to, że przeciwciała w surowicy rzadko kiedy pojawiają się w pierwszym tygodniu choroby, czasami więc można nie stwierdzić ich obecności nawet do momentu zgonu, jak również to, że przeciwciała mogą być produkowane na bardzo niskim poziomie.

Jeszcze mniejsze zastosowanie praktyczne w diagnostyce wścieklizny ma wykrywanie przeciwciał neutralizujących w płynie mózgowo-rdzeniowym, gdzie pojawiają się one dopiero od 2 do 7 dnia po pojawieniu się ich w surowicy.

W przypadku izolacji wirusa ze śliny dodatnie wyniki testu uzyskano w 59% (ograniczenia tej metody są takie same jak w przypadku izolacji kwasu nukleinowego ze śliny) (6). Poza tym izolacja wirusa jest najczęściej stosowana jako dodatkowa metoda potwierdzająca zachorowanie na wściekliznę.

Ponieważ żaden test stosowany w przyżyciowej diagnostyce wścieklizny nie jest skuteczny w 100% w celu potwierdzenia lub odrzucenia podejrzenia o zachorowanie na wściekliznę zalecane jest zastosowanie kilka testów na raz. Francuzi proponują do diagnostyki przyżyciowej wścieklizny u ludzi użycie dwóch testów: testu wykrywającego antygen wirusa metodą immunofluorescencji bezpośredniej w bioptatach skóry pobranych z karku oraz metody RT-PCR, wykrywającej obecność kwasu nukleinowego wirusa wścieklizny w ślinie chorych. Stosując te dwie metody zdiagnozowali przyżyciowo wściekliznę u wszystkich 9 pacjentów (na 28 z podejrzeniem o zachorowanie na wściekliznę), u których pośmiertnie potwierdzono wściekliznę (2). Również w USA na pięć osób chorych na wściekliznę w 2000 roku, u trzech, u których również zastosowano te dwie metody, wściekliznę zdiagnozowano przyżyciowo. Natomiast u chorego, u którego wykonano jedynie test sprawdzający obecność przeciwciał neutralizujących w surowicy krwi (test RFFIT) oraz u osoby, u której przyżyciowo nie wykonano żadnych testów diagnostycznych w kierunku wścieklizny, chorobę tą zdiagnozowano dopiero po śmierci (4).

W Polsce 4 października 2000 r. kobieta zamieszkała w okolicy Ostródy zmarła na wściekliznę po pogryzieniu przez kota. Po narażeniu osoba ta nie została zaszczepiona przeciwko wściekliznie. Był to pierwszy przypadek tej choroby u człowieka w naszym kraju od 15 lat. W materiale pobranym przyżyciowo od pacjentki stwierdzono obecność antygeny wirusa metodą immunofluorescencji bezpośredniej w preparatach wykonanych ze śliny oraz z odcisków z rogówki. Nie stwierdzono natomiast przeciwciał w surowicy krwi (metoda RFFIT) pobranej na dwa dni przed śmiercią pacjentki. Wściekliznę potwierdzono pośmiertnie testem immunofluorescencji bezpośredniej stwierdzając obecność antygeny wirusa w tkance mózgowej. Ponadto stosując metodę PCR oraz RFLP stwierdzono, że szczep wyizolowany od zmarłej kobiety, reprezentuje północno-wschodnio europejski (NEE) wariant wirusa wścieklizny genotypu 1. Wariant ten jest charakterystyczny i dominujący na terenach północno-wschodniej Polski (8).

Rozpoznanie przyżyciowe wścieklizny jest bardzo ważne z kilku powodów: pozwala oszczędzić choremu, czasami bolesnej, diagnostyki w kierunku innych chorób; pozwala na prawidłową opiekę i odpowiednie leczenie chorego; ma znaczenie organizacyjno-ekonomiczne polegające na zmniejszeniu liczby osób (rodzina, personel szpitalny itp.) zszczepionych poekspozycyjnie po kontakcie z osobą chorą.

PIŚMIENNICTWO

1. World Health Organization. Thirty Fourth World Survey of Rabies. 1998.
2. Crepin P, Audry L, Rotivel Y, Gacoin A, Caroff C, Bourhy H. Intravitam diagnosis of human rabies by PCR using saliva and cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1117-20.
3. Noah DL, Drenzek CL, Smith JS, Krebs JW, Orciari L, i in. Epidemiology of human rabies in the United States, 1980 to 1996. *Ann Intern Med* 1998; 128: 922-30.
4. Centers for Disease Control. Human rabies - California, Georgia, Minnesota, New York and Wisconsin, 2000. *MMWR* 2000; 49: 1111-5.
5. Hemachudha T. Human rabies: clinical aspects, pathogenesis and potential therapy. W: Rupprecht LE, Dietzschold B, Koprowski H, red. *Lyssaviruses*. Wyd. 1. Berlin: Springer-Verlag; 1994: 121-44.

6. Fishbein D. Rabies in humans. W: Baer GM, red. The natural history of rabies. Wyd. 2. Boca Raton: CRC Press, Inc; 1991: 519-49.
7. Warrell MJ, Looareesuwan S, Manetsathit S, White J, Phuapradit P, i in. Rapid diagnosis of rabies and post-vaccinal encephalitis. Clin Exp Immunol 1988; 71:229-34.
8. Bourhy H, Kissi B, Audry L, Smreczak M, Sadkowska-Todys M, i in. Ecology and Evolution of rabies viruses in Europe. J Gen Virol 1999; 80: 2545-58.

Adres autorki:

Małgorzata Sadkowska-Todys

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24

MAŁGORZATA SADKOWSKA-TODYS

RELACJE GENETYCZNE I ANTYGENOWE MIĘDZY SZCZEPEM PASTEUROWSKIM A AKTUALNIE KRĄŻĄCYMI SZCZEPAMI ULICZNYMI

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny
Kierownik: Prof. dr hab. Wiesław Magdzik

Na terenie Polski występują dwa genotypy rodzaju *Lyssavirus*: genotyp 1 – charakterystyczny dla szczepów wirusa izolowanych od zwierząt naziemnych oraz genotyp 5, do którego należą szczepy izolowane od nietoperzy owadożernych.

Z punktu widzenia zapobiegania zachorowaniom ludzi na wściekliznę bardzo ważnym aspektem jest skuteczność stosowanych szczepionek w ochronie przed zakażeniem szczepami krążącymi w środowisku. Ma na to wpływ między innymi podobieństwo szczepu, używanego do produkcji szczepionki, do aktualnie krążących szczepów.

Charakterystyki szczepów ulicznych wirusa wścieklizny występujących w Polsce dokonano na podstawie analizy sekwencji nukleotydów odcinka genu nukleoproteiny wirusa o długości 400 par zasad, zlokalizowanego na końcu aminowym białka N (nukleoproteina). Otrzymane wyniki pozwoliły wyróżnić w obrębie genotypu 1 cztery grupy filogenetyczne (NE, CE, NEE, EE) odpowiadające czterem wariantom wirusa wścieklizny genotypu 1 występującym na terenie Europy: europejski lis 1 (F1), europejski lis 2 (F2), europejski lis 3 (F3) oraz lis-jenot (F-RD) (1, 2). Najmniejsze podobieństwo pomiędzy szczepami izolowanymi na terenie kraju wynosi 94,75%, zaś w obrębie jednego wariantu – 98%. Na terenie Polski, jak już wspomniano oprócz szczepów genotypu 1 występują szczepy genotypu 5. Podobieństwo sekwencji nukleotydowej genu nukleoproteiny polskich szczepów, należących do genotypu 1 i 5, jest nie większe niż 70,75%, natomiast podobieństwo sekwencji aminokwasowej genu nukleoproteiny szczepów polskich należących do genotypu 1 i 5 – nie przekracza 78,2% (2).

Podobieństwo pomiędzy szczepami ulicznymi wirusa wścieklizny genotypu 1 izolowanymi na terenie Polski w ciągu ostatnich 14 lat a szczepami PV i CVS należącymi do referencyjnych szczepów laboratoryjnych jest bardzo wysokie. Szczepy CVS i PV pochodzą od szczepu wyizolowanego przez Pasteura w 1882 roku i były wielokrotnie pasażowane zarówno na zwierzętach jak i na hodowlach komórkowych (2). Różnice pomiędzy sekwencjami nukleotydowymi wynoszą maksymalnie w przypadku szczepu PV – 90,75%, zaś CVS – 93,23%, natomiast pomiędzy sekwencjami aminokwasowymi wynoszą dla PV – 91,25% a dla CVS – 94,74% (2). Tak małe różnice w sekwencji szczepów izolowanych w odstępie około 100 lat świadczą o bardzo powolnej ewolucji wirusa wścieklizny.

Natomiast podobieństwo odcinka genu nukleoproteiny pomiędzy szczepem CVS a szczepami izolowanymi w Polsce, należącymi do genotypu 5 wynosi tylko 69% dla sekwencji nukleotydowej i 74% dla sekwencji aminokwasowej (2).

Różnice znajdowane pomiędzy szczepami w ich sekwencji nukleotydowej i aminokwasowej nie muszą mieć odwzorowania w różnicach antygenowych. Podobnie różnice w strukturze antygenowej, określane przeciwciałami monoklonalnymi, pomiędzy szczepem szczepionkowym a szczepami ulicznymi nie muszą świadczyć o złej ochronie przed zakażeniem (3). Nasuwa się więc pytanie: czy zróżnicowanie szczepów określane metodami genetycznymi może mieć praktyczne odbicie w zdolności neutralizacyjnej poliwalentnych surowic ludzi szczepionych szczepem PM wobec badanych szczepów. Jest to istotny problem ponieważ wyniki odczynu seroneutralizacji stanowią miernik stanu uodpornienia ludzi przeciw wściekliznie, zaś prac wykonanych w tym zakresie jest niewiele (4).

W badaniach własnych wykonano odczyn neutralizacji z 10 odwoławczymi surowicami, używając do dawki challenge szczepu wirusa genotypu 1 wariant F1 oraz szczepów izolowanych od nietoperzy (4631 i 4697) – genotyp 5 EBL1a. Zastosowano metodę *in vitro* – RFFIT. Otrzymane wyniki nie wykazały istotnych różnic pomiędzy zdolnością neutralizacyjną surowic wobec szczepu CVS oraz badanych szczepów ulicznych (dane niepublikowane). Podobne wyniki otrzymała Seroka badając (metodą *in vivo*) zdolność neutralizacji szczepów, izolowanych od różnych gospodarzy zwierzęcych na terenie Polski, przez surowicę człowieka szczepionego przeciw wściekliznie (5). Dietzschold użył ludzkich, poliklonalnych surowic odpornościowych do testu neutralizacji szczepów dzikich wirusa wścieklizny (genotyp 1) wykazujących 86% homologię sekwencji aminokwasowych glikoproteiny, nie znajdując istotnych różnic w zdolności zobojętniania tych szczepów przez badane surowice (6). Schneider badając poziom przeciwciał neutralizujących indukowanych szczepem genotypu 1 przeciwko szczepom wirusa izolowanym od nietoperzy stwierdził, że chociaż poziom wykrywanych przeciwciał neutralizujących był niższy w stosunku do poziomu otrzymanego ze szczepem CVS to jednak w większości przypadków mieścił się w granicach wartości ochronnych (7). Herzog stwierdził natomiast, że obecność przeciwciał neutralizujących wirus EBL 1 wiąże się zwykle z jednoczesnym wysokim poziomem przeciwciał neutralizujących szczep CVS (8). Najgorsze wyniki uzyskała Celis wykazując ochronny poziom przeciwciał przeciwko wirusowi EBL 1 tylko u trzech pacjentów wśród sześciu badanych (9).

Test neutralizacji wykazuje reaktywność przeciwciał neutralizujących z glikoproteiną wirusa, natomiast zastosowanie metody Western blot daje w założeniu możliwość „wglądu” w reaktywność przeciwciał ze wszystkimi białkami wirusa.

Wszystkie białka wirusa wścieklizny są aktywne antygenowo. Dlatego zdecydowano się na zastosowanie do analizy podobieństwa pomiędzy szczepami wirusa wścieklizny metody Western blot opracowując własne warunki wykonania tej metody z użyciem szczepów ulicznych i ludzkiej surowicy poliklonalnej (10).

Dotychczas metoda western blot była wykorzystywana jedynie do badania reaktywności przeciwciał monoklonalnych z białkami wirusa wścieklizny co pozwoliło na identyfikację miejsc antygenowych jego białek i określenie struktury epitopów (10, 12, 13, 14, 15, 16, 17). Natomiast surowice poliklonalne były stosowane jedynie do kontroli tej

metody (14, 18). Jednym z trudniejszych etapów tej metody jest oporność szczepów ulicznych genotypu 1 w adaptacji do hodowli komórkowych.

Należy zaznaczyć, że metoda western blot pozwala jedynie na badanie epitopów liniowych, ponieważ epitopy konformacyjne ulegają zniszczeniu w warunkach denaturujących. Antygeny glikoproteiny są w większości epitopami konformacyjnymi (13). Lafay i współautorzy otrzymali kolekcję kilkuset przeciwciał monoklonalnych, z których tylko 12 (około 2%), wśród nich 3 neutralizujące, rozpoznawały glikoproteinę po denaturacji. Glikoproteina wirusa wścieklizny posiada tylko trzy rozpoznane epitopy liniowe (10, 14, 19). W przypadku nukleoproteiny występowanie epitopów liniowych jest również ograniczone ilościowo (15,20). Minamoto i współautorzy stwierdzili, że nukleoproteina posiada co najmniej cztery częściowo pokrywające się miejsca antygenowe składające się z ponad 13 epitopów. Epitopy liniowe znajdujące się w miejscu antygenowym I i IV i są rozpoznawane przez mniejszą liczbę przeciwciał monoklonalnych niż te, które są zlokalizowane w miejscu antygenowym II i III. Epitopy mieszczące się w II i III miejscu antygenowym są wspólne dla szczepów ustalonych i szczepów ulicznych wirusa wścieklizny, zaś epitopy charakterystyczne dla rodzaju *Lyssavirus* występują w miejscach I, III i IV (15). W przeciwieństwie do gliko- i nukleoproteiny większość epitopów znajdujących się na fosfoproteinie jest liniowa (17). Tłumaczy to fakt, że w badaniu reaktywności surowic ze szczepami wirusa wścieklizny należącymi do różnych wariantów i genotypów, ponad 50% odpowiedzi w stosunku do białek szczepów była związana z fosfoproteiną (10).

W związku z niszczeniem epitopów konformacyjnych przy zastosowaniu metody western blot wydaje się, że może być ona używana jedynie do oceny podobieństwa pomiędzy szczepami. Natomiast nie powinna być stosowana do oceny stanu uodpornienia przeciw zakażeniu dzikimi szczepami wirusa wścieklizny. Do tego celu bardziej wskazane wydaje się być zastosowanie metody neutralizacji (metoda RFFIT), z użyciem do dawki challenge szczepów ulicznych wirusa należących do różnych wariantów i genotypów.

Wyniki badań własnych potwierdzają wątpliwości niektórych autorów odnośnie zasadności stosowania szczepu CVS do oceny mocy ochronnej szczepionki przed zakażeniem szczepami wirusa ulicznego zróżnicowanych genotypowo i biotypowo (5, 21, 22). Podobieństwo genetyczne pomiędzy szczepem CVS a szczepami ulicznymi genotypu 1 jest stosunkowo wysokie (2). Natomiast – w porównaniu z wirusami ulicznymi – szczep CVS wykazywał najwyższą, istotnie różną statystycznie reaktywność z immunoglobuliną odpornościową i surowicami ludzi szczepionych. Dlatego też szczep ten nie może być uważany za obiektywny miernik skuteczności szczepień i w przypadku pojawienia się nowego wariantu, genotypu lub nowego źródła zakażenia wirusem wścieklizny, izolowany szczep powinien być przebadany pod względem jego podobieństwa antygenowego ze szczepem szczepionkowym w teście ochrony czynnej i seroneutralizacji z surowicą odpornościową mono- i poliklonalną.

PIŚMIENNICTWO

1. Bourhy H, Kissi B, Audry L, Smreczak M, Sadkowska-Todys M, i in. Ecology and evolution of rabies viruses in Europe. *J Gen Virol* 1999; 80: 2545–58.
2. Sadkowska-Todys M. Zależność pomiędzy pokrewieństwem filogenetycznym szczepów ulicznych wirusa wścieklizny a reaktywnością ich antygenów z przeciwciałami indukowanymi

- szczepem szczepionkowym. I. Analiza pokrewieństwa filogenetycznego szczepów wirusa wścieklizny izolowanych w Polsce. *Med Dośw Mikrobiol* 2000; 52: 173–83.
3. Dietzschold B, Rupprecht ChE, Tollis M, Lafon M, Mattei J, i in. Antigenic diversity of the glycoprotein and nucleocapsid proteins of rabies and rabies-related viruses: implications for epidemiology and control of rabies. *Rev Infect Dis* 1988; 10 (supp. 4): S785–98.
 4. Report World Health Organization. Expert Committee on rabies. Eighth Report. WHO Tech Rpt No. 824. Geneva 1992.
 5. Seroka D. Wartość antygenowa szczepionki przeciw wściekliznie dla ludzi wobec szczepów wirusów ulicznych krążących w populacji zwierząt dzikich w Polsce. *Med Dośw Mikrobiol* 1994; 46: 331–47.
 6. Dietzschold B, Hooper ICC. Human diploid cell culture rabies vaccine (HDCV) and purified chick embryo cell culture rabies vaccine PCECV both confer protective immunity against infection with the silver-haired bat rabies virus strain (SHBRV). *Vaccine* 1998; 16: 1656–9.
 7. Schneider LG, Muller WW, Hohnsbeen KP. Present human rabies vaccines and neutralising antibody activity against the bat-rabies strain Duvnehage recently isolated in Poland (POL), Denmark (DEN) and the Federal Republic of Germany (Deu). *WHO Rabies Bull Eur* 1986; 2: 9–11.
 8. Herzog M, Fritzell C, Lafage M, Montano, Hirose JA, Scott-Algara D. T and B cell human responses to European bat lyssavirus after post-exposure rabies vaccination. *Clin Exp Immunol* 1991; 85: 224–30.
 9. Celis E, Ou D, Dietzschold B, Koprowski H. Recognition of rabies and rabies-related viruses by T-cells derived from human vaccine recipients. *J Virol* 1988; 62(9): 3128–34.
 10. Sadkowska-Todys M. Zależność pomiędzy pokrewieństwem filogenetycznym szczepów ulicznych wirusa wścieklizny a reaktywnością ich antygenów z przeciwciałami indukowanymi szczepem szczepionkowym. II. Zależność pomiędzy dystansem genetycznym a reaktywnością przeciwciał z badanymi szczepami. *Med Dośw Mikrobiol* 2000, 52: 185–96.
 11. Bunschoten H, Gore M, Claassen IJ, Uytdehaag FG, Dietzschold B, Wunner WH, Osterhaus AD. Characterization of a new virus-neutralizing epitope that denotes a sequential determinant on the rabies virus glycoprotein. *J Gen Virol* 1989; 70: 291–8.
 12. Dietzschold B, Lafon M, Wang H, Otvos L, Celis E, i in. Localization and immunological characterization of antigenic domains of the rabies virus internal N and NS proteins. *Virus Res* 1987; 8: 103–25.
 13. Lafay F, Benmansour A, Chebli K, Flamand A. Immunodominant epitopes defined by a yeast-expressed library of random fragments of the rabies glycoprotein map outside major antigenic sites. *J Gen Virol* 1996; 77: 339–46
 14. Luo TR, Minamoto N, Ito H, Goto H, Hiraga S, i in. A virus-neutralizing epitope on the glycoprotein of rabies virus that contains Trp251 is a linear epitope. *Virus Res* 1997; 51: 35–41.
 15. Minamoto N, Tanaka H, Hishida M, Goto H, Ito H, i in. Linear and conformation-dependent antigenic sites on the nucleoprotein of rabies virus. *Microbiol Immunol* 1994; 38: 449–55.
 16. Raux H, Coulon P, Lafay F, Flamand A. Monoclonal antibodies which recognize the acidic configuration of the rabies glycoprotein at the surface of the virion can be neutralizing. *Virology* 1995; 210: 400–8.
 17. Raux H, Iseni F, Lafay F, Blondel D. Mapping of monoclonal antibody epitopes of the rabies virus P protein. *J Gen Virol* 1997; 78:119–24.
 18. Flamand A, Raux H, Gaudin Y i inni. Mechanisms of rabies virus neutralization. *Virology* 1993; 194: 302–13.
 19. Dietzschold B, Gore M, Casali P, Ueki Y, Rupprecht ChE i in. Biological characterization of human monoclonal antibodies to rabies virus. *J Virol* 1990; 64(6): 3087–90.

20. Lafon M, Wiktor TJ. Antigenic sites on the ERA rabies virus nucleoprotein and non-structural protein. *J Gen Virol* 1985; 66: 2125-33.
21. Barth R, Diderrich G, Weinmann E. NIH test, a problematic method for testing potency of inactivated rabies vaccine. *Vaccine* 1988; 6: 369-77.
22. Bijlenga G. A potency test which simulates natural exposure for measuring post-exposure activity of rabies vaccines. W: A proposal for preparing a relevant international reference preparation. *Develop. Biol. Standard.* Karger, Basel 1978; 40: 203-8.

Adres autorki:

Małgorzata Sadkowska-Todys

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24

RICH RACZKOWSKI, CHARLES V. TRIMARCHI

RACCOON (*PROCYON LOTOR*) RABIES EPIZOOTIC IN NEW YORK STATE

Rabies Laboratory, Wadsworth Center
New York State Department of Health

BACKGROUND

Rabies is not an emerging disease; instances of rabies have appeared in historical records for thousands of years. The first known description can be traced to 23rd century BC Mesopotamia. Additional worldwide historic references to the existence of rabies include 6th century BC China, 5th century BC Greece, 1st century AD Rome, and 2nd century AD Galilee (1, 2).

Currently, rabies is global in extent, occurring in 113 countries and responsible for upwards of 33,000 cases of human mortality yearly. Historically, the domestic dog has been the primary rabies vector. This remains so in Africa, Asia, and South America. Cycles of rabies in terrestrial wildlife and bats exist concurrently with dog rabies and in many areas where canine rabies has been controlled (3).

In the United States, the dog remained the primary vector of rabies until the introduction of widespread canine rabies vaccination during the 1940s and 1950s, along with the adoption of compulsory leash laws (4). Subsequently, the United States has benefited from a dramatic decline in both canine rabies and associated human rabies mortality. Concomitantly, as canine rabies was being controlled, an increase in wildlife rabies was observed.

Today, the primary rabies vectors in America are wildlife. There are nine recognized distinct forms of the virus occurring in the United States. Each form is identified not only by its predominant vector, but also by the unique antigenic and molecular makeup of the virus, as disclosed through the use of monoclonal antibody and nucleic acid sequencing techniques. These nine forms consist of: red fox rabies in the northeast and also in Alaska; coyote/dog rabies in south Texas; 3 forms of skunk rabies in the north central and south central areas of the country, and along the west coast; two forms of gray fox rabies occurring in portions of Texas and Arizona; raccoon rabies along the entire eastern seaboard; and bat rabies throughout (actually composed of numerous distinct variants in itself) (5).

RABIES IN NEW YORK STATE

New York State is one of 50 states that comprise the United States. It is in the northeast area of that country, and has an area of 137,304 square km and a human population of 18.2 million. New York State ranges from highly urbanized in the south to sparsely populated in the north. 59.3 % of the population resides in the southern-

most part of the state in only 5.7% of the area. Because of its geographical diversity and population distribution, it is worthwhile to use New York State as a model for rabies epizootiology in the United States in general.

Since the control of canine rabies in the 1950's, New York State has experienced rabies cycles in three primary wildlife vectors. Rabies in red foxes occurred in our northernmost areas in periodic, geographically limited outbreaks. This represents the southern extent of an ongoing epizootic of red fox rabies in the adjacent Canadian provinces of Ontario and Quebec. The most recent associated cases of the red fox strain of rabies in New York State were observed in early 1993. Rabies in bats has been identified in all areas of the state. Bat rabies is distinct from terrestrial rabies, existing in various distinct cycles, and caused by several different variants of virus. An intense raccoon-vectored outbreak entered New York from the south in 1990, and has since spread throughout the state, affecting all areas with the exceptions of Long Island in the south and Franklin County in the north.

The characteristic rabies virus variants responsible for red fox, raccoon, and bat rabies cycles tend to remain compartmentalized in the primary vector species, with the vast majority of infections identified within those species. Periodic spillover cases are identified in other mammalian species.

RACCOON RABIES IN THE UNITED STATES

Raccoon rabies presents an ideal example to track the emergence and spread of a wildlife rabies epizootic. Although the source of the original introduction into raccoon populations is unknown, we do know that the first reported outbreak of rabies in raccoons in the United States occurred in the central part of the State of Florida in 1947. It gradually spread south and north, with only 83 confirmed cases of rabid raccoons reported sporadically in the next seven years (6). This initial paucity of observations could be a reflection of the smaller human population and resultant limited animal rabies surveillance at that time. The human population of Florida in 1947 was 2.5 million, vs. 15.1 million in 1999 (7).

The raccoon strain of rabies continued to spread northward, reaching the states of Georgia in 1962 and South Carolina in 1971 (8). Raccoons have been transported, both legally and illegally, from Florida to states further north in group shipments, by private hunting clubs, from as early as 1975. Rabid raccoons are known to have been included in at least two of these shipments (9). Apparently the result of such translocations, in 1977 a rabid raccoon was found in the state of West Virginia, a jump of approximately 700 km from the existing front. Three more rabid raccoons were found that year in neighboring counties in Virginia. This marked the beginning of an extremely intense and fast-moving outbreak of raccoon rabies in the highly urbanized and populated central and northern portions of the eastern seaboard of the United States.

From this point along the West Virginia/Virginia border, the epizootic wavefront spread both north and south. It spread southward into North Carolina, finally merging with the advancing southern states epizootic in central North Carolina during 1995. Traveling at an average rate of approximately 40 km/year (25 mi/year), it advanced north along the eastern seaboard, reaching the states of Maryland in 1981, Pennsylvania

in 1982, Delaware in 1987, and New Jersey in 1989 (10), finally entering New York State in 1990. It has since spread further northeast into Connecticut in 1991, Massachusetts and New Hampshire in 1992, Rhode Island, Vermont and Maine in 1994, finally reaching the Canadian provinces of Ontario in 1999 and New Brunswick in 2000. The raccoon rabies epizootic now stretches along the entire eastern seaboard of the United States, a distance of nearly 2 800 km.

Remarkably, the progression of raccoon rabies westward has been relatively slow, not reaching the state of Ohio until 1997 (11). This slow westward movement is likely attributable to various geographic boundaries, most prominent of which are the Appalachian Mountains.

RACCOON RABIES IN NEW YORK STATE

The raccoon rabies epizootic entered New York State from Pennsylvania in 1990 at two different locations. It spread rapidly, with seven counties in southern New York affected by the end of 1990.

During the nine years from the emergence of raccoon rabies in the southern portions of New York State in 1990, until 1998, when the epizootic reached the northern part of the state, the wavefront had advanced nearly 360 km, averaging 40 km/year. This is consistent with the experience in other states along the eastern seaboard (12).

Two mountainous areas characterize New York State: the Catskill Mountains in the southeast, and the Adirondack Mountains in the north. The Catskill Mountains are actually an eroded plateau. The highest peak is 1,281 meters. 35 mountains are higher than 1,060 meters. The terrain is rugged, with numerous passes. The Adirondack Mountains represent a geographically larger range than the Catskills. The highest peak is 1,629 meters, and there are over 40 mountains higher than 1,200 meters. There are fewer passes through the mountains at an average elevation higher than in the Catskills. It is of interest that the Catskill Mountains posed no real barrier to the advancing raccoon rabies wavefront. Raccoon rabies reached the area of the Catskill Mountains in August 1991, and completely engulfed the region by October 1992.

The same cannot be said for the Adirondack Mountains. The wavefront reached the southern extent of the Adirondacks in September 1994. The epizootic then divided, bypassing the high peaks area of the Adirondack Mountains along the east and west. In general, a higher elevation equates to a less dense raccoon population, probably falling below a threshold that can sustain the epizootic.

Wherever there is an intense, vector-specific rabies epizootic, occasional transmission into species other than the primary vector occurs into a wide variety of other wild and domestic mammals. New York State has observed a remarkable diversity of mammalian species affected by rabies infection as a result of spillover of rabies-vector epizootics. See Tables I and II. A total of 2,287 non-vector, wild mammals and 466 animals of domestic species were found rabid during the 11-year period of raccoon rabies in New York State. All of these cases were confirmed through the use of monoclonal antibody techniques to be of the raccoon variant of the virus.

The most frequently reported cases of rabies in a non-vector species occur in the striped skunk (*Mephitis mephitis*). The skunk, which is a rabies vector species in its own right in large areas of central North America and the west coast, represents

a special case in those areas where rabies is established in other terrestrial carnivores by virtue of the extremely large numbers of rabid skunks infected due to spill-over. Although no skunk rabies variant or independent outbreak existed in New York during the study period, there were 1,765 skunks confirmed rabid with the raccoon variant between the years 1990 and 2000.

The gray fox (*Urocyon cinereoargenteus*) is another interesting non-rabies-vector species, with significant public health ramifications. Since 1990, rabid gray foxes in New York State have been associated exclusively with the raccoon rabies epizootic. A rabid gray fox is usually extremely vicious, characterized by persistent, aggressive behavior of 1 to 3 days duration, often accompanied by ferocious, repeated attacks. Rabid gray foxes account for a disproportionate percentage of confirmed rabid carnivores that go on to bite people. Out of 9,666 rabid raccoons in the 1990 to 2000 period, only 212 (2.2%) were involved in bites to people. However, of only 251 rabid gray foxes during that same time period, fully 125 individuals (49.8%) bit at least one person. A rabid gray fox was nearly 23 times more likely to inflict a bite wound to a human than was a rabid raccoon. All 251 cases of rabid gray foxes were antigenically identified as related to the raccoon rabies variant.

The effect of the epizootic on diagnostic facilities has been dramatic. For the 10-year period before raccoon rabies reached New York State, the New York State Rabies Laboratory averaged 3,095 animal examinations per year. This number also reflects an ongoing bat rabies enzootic, and repeated incursions of red fox rabies from Canada. In the 10 years since raccoon rabies first entered the state (1990–1999), our laboratory averaged 8,807 examinations/year. This is despite the last observed occurrence of red fox rabies in 1993.

ORAL RABIES VACCINATION

To date, there has not been a human fatality attributable to the raccoon rabies epizootic, but the associated costs have been large. Mainly, this has been the result of the increased numbers of people receiving post-exposure prophylaxis following contact with a known or suspected rabid mammal, as well as the growing costs for rabies diagnosis and animal control. A vaccinia-vectored recombinant oral rabies vaccine (V-RG) was licensed in the United States in 1997 for use in government-sponsored campaigns to vaccinate raccoons by distributing vaccine-laden baits. Several states have initiated raccoon vaccination programs to establish barrier zones to the further spread of the disease or to extinguish the disease in enzootic areas. These efforts have resulted in a large degree of success in the states of New York, Massachusetts, Vermont and Ohio (13). There have been five vaccination trials conducted within New York State. Both the New York State Department of Health (NYSDOH) and also the Veterinary Diagnostic Laboratory at Cornell University (Cornell) conduct trials.

To achieve the elimination of rabies from an enzootic area or the creation of a barrier against the spread of an epizootic into a rabies naïve area, a sufficient number of the target species must be immunized. Early successful efforts for the containment and elimination of fox rabies in areas of Europe have demonstrated that these goals can be achieved when 50 – 75% of the target species are successfully vaccinated (14).

Table I. Laboratory Confirmed Rabies. Non-Vector Wildlife Species – New York State, 1990–2000

Striped Skunk (<i>Mephitis mephitis</i>)	1765	Bobcat (<i>Felis rufa</i>)	4
Gray Fox (<i>Urocyon cinereoargenteus</i>)	251	Coyote (<i>Canis latrans</i>)	3
Woodchuck (<i>Marmota monax</i>)	107	River Otter (<i>Lutra Canadensis</i>)	2
Red Fox (<i>Vulpes fulva</i>)	106	Black Bear (<i>Ursus americanus</i>)	1
Whitetail Deer (<i>Odocoileus virginianus</i>)	32	Fisher (<i>Martes pennanti</i>)	1
Opossum (<i>Didelphis marsupialis</i>)	8	Muskrat (<i>Ondatra zibethica</i>)	1
Beaver (<i>Castor canadensis</i>)	6		

Table II. Laboratory Confirmed Rabies. Domestic Mammals – New York State, 1990–2000

Cat (<i>Felis catus</i>)	291	Sheep (<i>Ovis sp.</i>)	3
Cattle (<i>Bos Taurus</i>)	95	Ferret (<i>Mustela putorius</i>)	2
Dog (<i>Canis familiaris</i>)	26	Sika Deer (<i>Cervus nippon</i>)	2
Horse (<i>Equus caballus</i>)	36	Camel (<i>Camelus dromedaries</i>)	1
Domestic Rabbit (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	4	Domestic Pig (<i>Sus scrofa</i>)	1
Goat (<i>Capra hircus</i>)	4	Llama (<i>Llama glama</i>)	1

The first attempt was conducted by NYSDOH in a 600 sq km area of east-central New York State from 1994 through 1997 to study the potential for rabies control in an enzootic area with raccoon rabies. Fishmeal polymer baits were distributed in the spring and fall at a rate of 50 to 100 baits per km. Distribution was via vehicle, hand, and helicopter. Assessment was via serology on blood samples collected from raccoons trapped and released in baited areas. An assessment of bait delivery success was made by analysis of teeth and bone for the biomarker included in the bait. Serologic conversion rates varied with bait density. Observed rabies incidence was significantly reduced in this trial area as compared to the adjacent unbaited control area.

At least in some settings, characteristics of the bait used to deliver the vaccine to raccoons does not appear to be significant, perhaps due to their omnivorous habits. A trial conducted in the state of Georgia in 1994 to examine bait preference used four different bait types. Raccoons in the test area showed no preference, taking equal numbers of each bait type (15). New York State originally began vaccination efforts with two slightly different versions of bait. A wax ampule enclosed the V-RG vaccine for one, and a plastic sachet for the other. Both versions were embedded in bait consisting of fishmeal, fish oil, and a polymer binder, which also contained tetracycline as a biomarker. This combination was designed to appeal to raccoons yet discourage other non-target animals. Since 1997, baits containing the wax ampoules have not been available, and New York State has exclusively used the latter bait. Baits in the form of a plastic sachet containing V-RG with only a flavor coating are an alternative now being evaluated. This may reduce the cost per bait, allowing for larger barrier zones.

The State Health Department also baited a 400 sq km area of northeastern New York to establish a barrier to the further northward spread of the outbreak. The area

is bounded by the two natural barriers of Lake Champlain to the East and the Adirondack Mountains to the west. Baiting of this area was initially in response to a 60 km "jump" of raccoon rabies and commenced in the summer of 1995. This barrier was breached in 1997 and in response the baiting area was increased in several stages to a final size of 1,300 sq km. Bait distribution was concentrated on known raccoon habitats (16). This effort appears to be successful, as no new cases of terrestrial rabies was observed either within or north of the baiting area since 1998. Unfortunately, clear evaluation of the efficacy of these efforts is difficult because of the lack of a comparable control area.

Cornell initiated an oral vaccine program in the western region of New York State in the fall of 1995. Bait distribution was via fixed-wing aircraft at an evenly distributed bait density of 50 to 75 baits per sq km throughout the 1355 sq km area. Revaccination of the area was conducted annually to control costs (17). An adjacent area of 1015 sq km, with a human population of only 20% that of the baited area, serves as a control area. The raccoon rabies epizootic reached both areas in 1994. In 1995, the rabies positivity rates for raccoons in both areas were similar: experimental area – 138 positive of 187 raccoons (73.4%); control area – 28 positive of 33 raccoons (75.8%). Despite the persistence of raccoon rabies in the experimental area, some effect on rabies prevalence has been observed. In the 5 years since the vaccination trial began (1996 – 2000) there were 69 positive out of 197 raccoons (35.0%) in the experimental area vs. 115 positive out of 200 raccoons (57.5%) in the control area.

Cornell has also been conducting an oral vaccination program in the northwestern region of New York State since 1995 for the purpose of serving as a barrier to the further spread of the epizootic. Baits were distributed in a 1460 sq km area in a manner similar to that of the western region. Results from this initial vaccination area were disappointing, as the barrier was breached in 1997. In 1999, the baited area was expanded northeastwards from the St. Lawrence River in New York State, which forms part of the United States–Canadian border, to a minimum depth of 48 km. This 8,030 sq km zone was vaccinated at a bait density of 75 baits per sq km in August 2000. As yet, there is insufficient data to determine the efficacy of this vaccination trial.

While successful barriers to the further spread of raccoon rabies appear to have been established in Massachusetts, Ohio and northeastern New York, other efforts at elimination or containment of raccoon rabies in the United States have met with mixed results. It is clear that experience gained from successful fox rabies elimination programs in Europe and Canada does not translate directly to raccoon rabies control. Factors yet to be optimized for oral vaccination of raccoons include ideal bait-density rates, frequency of campaigns, ideal bait design, and bait distribution patterns.

R Raczkowski, CV Trimarchi

WŚCIEKLIZNA SZOPÓW PRACZY

Streszczenie

Od momentu wprowadzenia w stanie Nowy Jork w latach 1950. nadzoru epidemiologicznego nad wściekliczną obserwowano trzy niezależne cykle krążenia wirusa związane z różnymi gatunkami zwierząt dzikich. Wściekliczna występowała okresowo na terenach północnej części stanu

wśród lisów rudych – ostatni przypadek odnotowano w 1993r. Wściekliznę nietoperzy wywołaną przez różne warianty wirusa stwierdzano na terenie całego. Epizootia wścieklizny szopów pracy, która miała miejsce wzdłuż wschodnich terenów wybrzeża Stanów Zjednoczonych dotarła do stanu Nowy Jork z południa w 1990 r. i objęła 58 z 62 hrabstw. W wyniku rozprzestrzenienia się wirusa zaobserwowano znaczny wzrost liczby przypadków wścieklizny potwierdzonych laboratoryjnie. W latach 1990–2000 na terenie stanu zatwierdzono 12 867 potwierdzonych laboratoryjnie przypadków wścieklizny zwierząt naziemnych, z których 76,1% (9 793) dotyczyło szopów pracy (*Procyon lotor*). Wynikiem występowania wścieklizny u szopów stało się rozprzestrzenienie wirusa wścieklizny wśród zwierząt nie należących do gatunków zaliczanych do wektorów wirusa. Jeden lub więcej przypadków wścieklizny potwierdzono u 13 gatunków dzikich zwierząt naziemnych i 10 gatunków zwierząt domowych. Największą liczbę przypadków wścieklizny (1 812) stwierdzono u skunksów zwyczajnych (*Mephitis mephitis*). W tym okresie zarejestrowano ponadto 256 przypadków wścieklizny u lisów szarych (*Urocyon cinereoargenteus*). Pojawienie się wścieklizny u lisów szarych zaznaczyło się zwiększeniem liczby agresywnych ataków na ludzi. Tylko 2,0% (200) spośród wściekłych szopów i 1,9% (34) spośród wściekłych skunksów pokąsało ludzi. W porównaniu, 40,6% (104) wściekłych lisów szarych pokąsało jedną lub więcej osób. Od 1994 r. w wielu rejonach stanu Nowy Jork rozpoczęto badania nad doustnym szczepieniem dzikich zwierząt rekombinowaną szczepionką przeciw wściekliznie (V-RG). Ustanowiono bariery ograniczające rozprzestrzenianie się epizootji. Wykazano zmniejszenie się liczby przypadków wścieklizny szopów na terenach dotkniętych chorobą.

REFERENCES

1. Baer GM, Neville J, Turner GS. Rabbits and Rabies: a pictorial history of rabies through the ages. Laboratorios Baer, Condessa, Mexico 1996; pp 133.
2. Wilkinson L. Understanding the nature of rabies: an historical perspective. In: Campbell JB, Charlton KM editors, Rabies. J.B. Kluwer Academic Publishers, Boston. 1988 pp 1–23.
3. World Health Organization. 1998. Thirty Fourth World Survey of Rabies.
4. Rupprecht CE, Smith JS, Fekadu M, Childs JE. The ascension of wildlife rabies: a cause for public health concern or intervention? *Emerg Infect Dis* 1995; 1: 107–14.
5. Smith JS. New aspects of rabies with emphasis on epidemiology, diagnosis, and prevention of the disease in the United States. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 166–76.
6. Bigler WJ, Mclean RG, Trevino HA. Epizootiologic aspects of raccoon rabies in Florida. *Am J Epidemiol* 1973; 98: 326–35.
7. US Census Bureau, Population Division. State Population Estimates, 1990–1999.
8. Carey AB. Multispecies rabies in the Eastern United States. In: Bacon PJ editor, Population Dynamics of Rabies in Wildlife. Academic Press, London. 1985, pp 23–41.
9. Nettles VF, Sxhaddock JH, Siles RK, Reyes CR. Rabies in translocated raccoons. *AJPH* 1979; 69: 601–2.
10. CDC. Update: Raccoon rabies epizootic United States, 1996. *MMWR* 1997; 45: 1117–20.
11. CDC. Update: Raccoon rabies epizootic – United States and Canada, 1999. *MMWR* 1999; 49: 31–5.
12. Rupprecht CE, Smith JS. Raccoon rabies: the re-emergence of an epizootic in a densely populated area. *Virology* 1994; 5: 155–64.
13. Robbins AH, Borden MD, Windmiller BS, Niezgodna M, Marcus LC, O'Brien SM et al. Prevention of the spread of rabies in wildlife by oral vaccination of raccoons in Massachusetts. *JAMA* 1998; 283: 1407–12.
14. Wandeler AI. Oral immunization of wildlife. In: Baer GM editor. The natural history of rabies, 2nd ed. CRC Press. pp 485–503.

15. Kavanaugh DM, Linhart SB. A modified bait for oral delivery of biological agents to raccoons and feral swine. *J Wildl Dis* 2000; 36: 86-91.
16. Willsey A. Personal communication. 2001.
17. Bigler LL, Lein DH. Personal communication. 2001.

Adres autora:

Rich Raczkowski, Assoc. Bacteriologist
Rabies Lab, NY State Dept of Health
Albany, NY 12201-0509
USA

e-mail: raczkows@wadsworth.org

tel: (518) 869 45 27

JACEK JUSZCZYK

PATOGENEZA GORĄCZEK KRWOTOCZNYCH

Klinika Chorób Zakaźnych Instytutu Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych
Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Termin wirusowe gorączki krwotoczne (gk.) obejmuje kilka grup zakażeń wirusowych. Został wprowadzony w latach 30-tych przez lekarzy rosyjskich i japońskich, którzy opisali ciężkie choroby o przebiegu gorączkowym i z objawami skazy krwotocznej występujące na południowej Syberii i w północnej Mandżurii. W miarę upływu czasu bardzo podobne zespoły chorobowe opisano w różnych częściach świata, zarówno w Azji, Europie, Afryce, jak i w obu Amerykach. Łączą je pewne cechy. Klinicznie jest to występowanie zmian krwotocznych i wysoka częstość pojawiania się wstrząsu oraz niewydolności wielonarządowej. Śmiertelność jest wysoka i może osiągać wartość 81–88% jak to opisano (22) w epidemiach gorączki Ebola w r. 1976 i 1995 w Zairze, a 73% (28) dla krymskiej gk. (gorączka Kongo) w Zjednoczonych Emiratach Arabskich na przełomie lat 1994./95. Są to znane wartości maksymalne. W gk. Lassa, argentyńskiej i innych wskaźniki te wynoszą ok. 15% (1). Wspólną właściwością etiologiczną jest ich wywoływanie przez zakażenie wirusami RNA posiadającymi otoczkę lipidową. Poza tym, należą do kilku grup taksonomicznych, różniąc się wielkością, kształtem i własnościami biochemicznymi. I tak np. flawiwirus wywołujący omską gk. ma średnicę 35–50 nm (najmniejszy) a filowirus odpowiedzialny za gorączkę Ebola ma średnicę 790–970 nm (największy). W tabeli nr 1 zestawiono znane czynniki etiologiczne gk.

W prezentowanym omówieniu nie będą przedstawiane problemy epidemiologiczne gk. Ponieważ objawy kliniczne gk. są tematem innego artykułu, będą one przywoływane tylko w kontekście wątków patogenetycznych leżących u podłoża mniej lub bardziej charakterystycznych zmian klinicznych. Mechanizmy prowadzące do zmian chorobowych występujących w gk. nie są jednak dokładnie poznane. Z wyjątkiem HFRS i DHF (skrótów międzynarodowe poszczególnych rodzajów gk. podane są w tabeli I) namnażanie wirusów odbywa się w układzie siateczkowo-śródbłonkowym (21). W okresie maksymalnej wirerii, do której dochodzi przeciętnie po około 14 dniach występuje gorączka wywołwana działaniem samego wirusa lub jest ona indukowana przez produkty reakcji zapalnej wchodzącej w skład odpowiedzi ze strony gospodarza (21). Niezależnie od różnic w przebiegu klinicznym i dynamiki zmian pomiędzy poszczególnymi typami gk., ciężkie ich postaci noszą cechy uogólnionej reakcji zapalnej (SIRS) z jej konsekwencjami. Podstawowe znaczenie ma tutaj uruchomienie wytwarzania i uwalniania cytokin (przegląd tematu: 16) rozpoczynających kaskadę zmian patogenetycznych. SIRS jest wynikiem nasilonej, nie dającej się zablokować aktywacji skomplikowanej sieci cytokinowej. Jej konsekwencją jest adhezja leukocytów do komórek

Tabela I. Etiologia gorączek krwotocznych

Choroba (skrót w j. angielskim)	Wirus
Omska gk. (OHF)	Flavivirus
Choroba Lasu Kyasanur (KFD)	Flavivirus
Gk. w przebiegu dengi (DHF)	Flavivirus
Krymsko-Kongijska gk. (CCHF)	Rodzina Buynaviridae, Rodzaj Nairovirus
Gorączka Doliny Valley (RVF)	Rodzina Buynaviridae, Rodzaj Phlebovirus
Gk. z zespołem nerkowym (HFRS)	Rodzina Buynaviridae, Rodzaj Hantavirus (Wirusy Hantaan, Seul i Puumala)
Argentyńska gk. (AHF)	Arenavirus (wirus Junin)
Boliwijska gk. (BHF)	Arenavirus (wirus Machupo)
Wenezuelska gk. (VHF)	Arenavirus (wirus Guanarito)
Gorączka Lassa (LF)	Arenavirus (wirus Lassa)
Afrykańska gk.	Filovirus (wirusy: Mrburg i Ebola)

śródbłonka, uwalnianie proteaz i metabolitów kwasu arachidowego, zwiększenie wytwarzania cząstek adhezyjnych na powierzchni komórek śródbłonka oraz uwalnianie chemokin.

Powody, jak i znaczenie zaburzeń układu krzepnięcia w powstawaniu obrazu krwotoczności w przebiegu gk. nie są dokładnie wyjaśnione. Niemniej typ zmian występujących w wielu rodzajach gk. można odnieść do rozsianego krzepnięcia śródnaczyniowego, (DIC) uruchomianego przez nadmierne, niekontrolowane wytwarzanie cytokin. Uogólnione wytwarzanie fibryny jest rezultatem zwiększonej syntezy trombiny, jednoczesnego zahamowania mechanizmów inhibitorów krzepnięcia oraz przedłużenia procesu usuwania fibryny na skutek zaburzenia fibrylizy. Powstawanie trombiny jest generowane przez czynnik tkankowy o bliżej nieznanym pochodzeniu i aktywację czynnika VIIa (19). Zaburzenia procesu hamowania krzepnięcia polegają przede wszystkim na zmniejszeniu aktywności antytrombiny III spowodowanego przez niekontrolowane wykrzepianie, degradację przez elastazę uwalnianą z aktywowanych neutrofilów oraz zaburzenia syntezy antytrombiny III (19). Procesy fibrynolityczne są niewydolne na skutek wzrostu stężenia aktywatora plazminogenu typu I; aktywność fibrynolityczna jest nieproporcjonalnie obniżona w stosunku do ilości odkładającej się fibryny (19). Fibrynopeptydy powstające w trakcie DIC zwiększają przepuszczalność naczyń, co stanowi niezwykle ważny fragment obrazu zmian hemodynamicznych. Zwiększona przepuszczalność naczyń włosowatych powoduje przedostawanie się poza ich światło białka (zwłaszcza w HFRS) i erytrocytów. Szczególnie jest to zaznaczone w CCHF i RVF. Efektem jest zagęszczenie krwi krążącej i hipowolemia, doprowadzające do wstrząsu (21). Uruchomienie tych mechanizmów prowadzi do rozwoju niewydolności wielonarządowej. Na poziomie tkankowym niewydolność narządowa jest rezultatem niedotlenienia powodowanego ciężkimi zaburzeniami lokalnego mikrokrążenia; giną komórki. Ulegają dysfunkcji praktycznie wszystkie narządy.

Ciężkie uszkodzenie nerek jest charakterystyczne dla gk. z zespołem nerkowym powodowanej przez wirusy Hanta. Lokalizacja zmian dotyczy przede wszystkim układu

cewek nerkowych. Uważa się, że jest to wywołane mechanizmami immunopatologicznymi, takimi jak odkładanie się pochodzących z krążenia kompleksów immunologicznych, względnie wiązania przeciwciał z antygenami wirusowymi znajdującymi się w zakażonych komórkach cewkowych (3, 25). W zaawansowanych przypadkach pojawia się skąpomocz lub bezmocz z następowym wielomoczem. Doprowadza to do zaburzeń w gospodarce wodno-elektrolitowej.

Analiza piśmiennictwa pozwala wysnuć wniosek, że najlepiej opracowano podłoże etiopatogenetyczne gorączki Ebola i Marburg. Z tego powodu zostaną one uwzględnione w pierwszym rzędzie i potraktowane w pewnym sensie modelowo. Wirusy z rodzaju Filowirusów dzielą się na dwa odrębne gatunki, Marburg i Ebola, różniące się w 55–65% składem struktur glikoproteinowych i nukleotydów (4). Zmiany wywołane przez te wirusy u człowieka znajdują potwierdzenie w eksperymentalnych zakażeniach u zwierząt, takich jak małpy, świnki morskie, chomiki i myszy (7, 31). Podstawowe znaczenie patogenetyczne w rozwoju wstrząsu oraz objawów krwotocznych ma zakażenie makrofagów i innych jednojądrzastych komórek żernych z wyzwaniem cytokin i innych mediatorów zapalnych. Wiedzie to do ciężkiego uszkodzenia mikrokrążenia ze wzrostem przepuszczalności śródbłonna (23). Filowirusy powodują najbardziej rozległe zmiany destrukcyjne w tkankach. Mają one charakter martwicy (efekt cytopatyczny) jak również wynikają z głębokiego niedotlenienia (8). Szczególnie nasilone są w wątrobie, gdzie dochodzi do rozległej martwicy z zaznaczonymi naciekami zapalnymi w przestrzeniach wrotnych (31). W śledzionie i w węzłach chłonnych poza zubożeniem w utkanie limfatyczne występują różnego stopnia zmiany martwicze (31). W makrofagach płucnych stwierdza się liczne wirusy; w narządzie tym brak jest jednak cech zapalenia: dominują zmiany krwotoczne i uszkodzenie pęcherzyków płucnych (31). Poza bezpośrednim zakażeniem komórek cewek nerkowych dominują cechy ostrej martwicy (31).

Po zakażeniu cząstki wirusów drogami chłonnymi przedostają się do okolicznych węzłów chłonnych. Jest to także możliwe bezpośrednio przez naczynia krwionośne. Pierwotny tropizm dotyczy poza węzłami chłonnymi także wątroby i śledziony co wynika ze szczególnego unaczynienia tych tkanek. W tych wczesnych okresach filowirusy replikują się w monocytach/makrofagach i fibroblastach zlokalizowanych przede wszystkim w ww. narządach (9, 26) a z mniejszą regularnością w innych (5). Pantropizm zakażenia jest typowy dla późnych faz infekcji i jest spowodowany roznoszeniem cząstek wirusowych przez wynaczynione komórki typu monocyty/makrofagi, na skutek uszkodzenia śródbłonnków naczyńniowych.

Monocyty/makrofagi albo poprzez replikację filowirusów albo wychwytywanie ich antygenów ulegają bardzo znacznej aktywacji. Dochodzi do wzmożonej transkrypcji cytokin, takich jak TNF- α , IL-1 β i IL-8 (29). W warunkach eksperymentalnych po zakażeniu wirusem Marburg już po 4–6 godz. stwierdza się znaczne ilości TNF- α , osiągające maksimum stężenia po 12–24 godz. (5). Cytokiny są przyczyną wczesnych nieswoistych objawów w zakażeniu filowirusami. Potwierdzono to, oznaczając TNF- α w surowicach pacjentów na początku ostrej fazy choroby wywołanej zakażeniem wirusem Ebola (10), co potwierdzono zakażając małpy (15). Podobne zjawisko występuje w argentyńskiej gk. (14). Jak to ustalono na innych modelach, cytokiny (a szczególnie TNF- α) są odpowiedzialne za rozwój SIRS i wstrząsu septycznego (2, przegląd tematu:

16). W okresie rozpadu jednojądrzastych fagocytów dochodzi do wyzwiania innych mediatorów zapalenia, takich jak proteazy, histamina, serotonina i H_2O_2 i NO. Wszystkie wymienione i niewymienione czynniki, o ile nie zadziałają mechanizmy kompensacyjne, doprowadzają do uszkodzenia śródbłonnków ścian naczyń i oddziałują destrukcyjnie na tkanki. Jednocześnie stymulują syntezę cytokin o właściwościach przeciwwirusowych: interferony, IL-1 i TNF- α . TNF- α ma działanie obosieczne, a więc w nadmiarze jest toksyczny (13).

Do tej pory nie poznano szczegółów oddziaływania wymienianych tutaj cytokin w kształtowaniu się przebiegu zakażenia filowirusami. Niemniej nowsze doniesienia rzucają na ten temat jaśniejsze światło (patrz dalej). Zakażenie linii makrofagalnych i replikacja filowirusów w tych komórkach może być powodem ich niewykrywania przez mechanizmy odporności komórkowej. Umożliwia to roznoszenie zakażenia, tym bardziej, iż uszkodzenie śródbłonka powoduje opuszczanie łożyska drobnych naczyń krwionośnych przez te komórki. Liczne prozapalne mediatory zapalenia wywołują wzrost ekspresji adhezyn i integryn na komórkach śródbłonka (11). Zwalniają one przepływ leukocytów, powodując ich toczenie się, a wreszcie zatrzymanie i wynaczynienie. W procesie tym biorą udział, sekwencyjnie, liczne cząstki, takie jak LFA-1, ICAM-1, PECAM-1, kompleks kadherynowo-kateninowy i inne (20). Dość charakterystyczną cechą zakażeń filowirusami jest skąpość nacieków zapalnych w miejscu nasilonej martwicy (24), co może dowodzić zaburzeń oddziaływania czynników o funkcji chemoatraktantów. Istnieją poszlaki do twierdzenia, iż filowirusy oddziałują immunosupresyjnie. Tak więc, uważa się, że w tym zakażeniu niska jest aktywność przeciwciał neutralizujących (27), chociaż ostatnio stwierdzono efektywność terapeutyczną surowic ozdrowieńców po gorączce Ebola (Mupapa, wg 27). Wpływ omawianych tu wirusów na komórki dendrytyczne węzłów chłonnych, których destrukcja blokuje pełną prezentację antygeny może być jednym z mechanizmów immunosupresji (24). Wysoka zawartość węglowodanów w jednej z glikoprotein filowirusów, jak również wiązanie się innej, małej glikoproteiny filowirusa z granulocytami może negatywnie wpływać na aktywację komórkowej odporności swoistej i nieswoistej (21, 30).

W badaniach eksperymentalnych przeprowadzonych na małpach wykazano, iż filowirusy mają własności wzbudzania rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, DIC (6). Uważa się, że występowanie DIC jest tu warunkowane przede wszystkim oddziaływaniem czynników tkankowych (12). Do tej pory nie znamy wszystkich warunków powodujących charakterystyczne dla gk. objawy krwotoczne. Najprawdopodobniej mają one charakter bardzo kompleksowy.

Zakażenie wirusem Ebola u niektórych osób nie wywołuje objawów choroby. Jest to uwarunkowane wykształceniem się efektywnej odporności na zakażenie. Badania z tego zakresu przeprowadzono w drugiej połowie lat 60. podczas epidemii w Gabonie; wśród chorujących śmiertelność osiągnęła 70% (18). U chorujących i odpornych stwierdzono cechy zakażenia tym samym wirusem. W drugiej z wymienionych grup wykazano silną odpowiedź humoralną (przeciwciała klasy IgM i IgG) skierowaną przeciwko białku wirusowemu NP i VP40. Anty-IgM pojawiały się, a następnie ich miano wzrastało począwszy do 15–18 dnia od ekspozycji na wirusa Ebola. IgG pojawiały się 7 dni po wykryciu IgM i miały niższe miano w porównaniu z IgM. U zakażonych bezobjawowo wykryto metodą PCR przejściową (trwającą ok. 2 tygodni) obecność RNA wirusa

Ebola w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej. Zanikała ona na tydzień przed pojawieniem się przeciwciał. Po ok. 7 dniach od ekspozycji wykrywano wysokie stężenia cytokin prozapalnych; IL-6, IL-1 β , TNF oraz chemokin MCP-1, MIP-1 α i MIP-1 β z gwałtownym zanikiem po 2–3 dniach. (Nie stwierdzano w surowicy obecności interferonu- α , IL-12 oraz cytokin-produktów limfocytów T, IL-2, IL-4, IL-5 i IFN- γ). Cytowane tu spostrzeżenia mają bardzo duże znaczenie dla poznania patogenezy zakażenia filowirusami, a być może także innymi wirusami powodującymi gk. Po pierwsze, potwierdzają już uprzednio obserwowane przez klinicystów zróżnicowanie przebiegu zakażenia mogącego skrajnie przybierać formy o małej ekspresji lub kończące się zgonami. Obecnie wiadomo, że zakażenie może przebiegać całkowicie bezobjawowo, o ile rozwinię się wczesna, silna odpowiedź komórkowa. Wyzwalane w jej trakcie cytokiny prawdopodobnie, podobnie jak w innych zakażeniach, skutecznie mogą blokować replikację wirusa w miejscu jego wtargnięcia i stymulować odpowiedź humoralną z klasyczną sekwencją, od IgM do IgG. Interesujące jest, że u zmarłych z powodu gorączki Ebola nie wykrywano w surowicy takich cytokin jak IL-1 β , TNF, IL-6, MIP-1 α i MIP-1 β , natomiast u ozdowieńców stwierdzano ich obecność w niskich lub średnich stężeniach tych samych cytokin (18).

Blizsze poznanie etiopatogenezy gk. ściśle wiąże się z postępowaniem badań nad przebiegiem zakażeń nad poziomie molekularnym. Niewątpliwie ograniczeniem w uzyskaniu większego zasobu danych jest występowanie gk. w obszarach świata, w których występują trudności w prowadzeniu subtelnych badań laboratoryjnych u chorych ludzi. Wiele informacji można uzyskać na modelach zakażeń eksperymentalnych u zwierząt.

PIŚMIENNICTWO

1. Bannister BA, Begg NT, Gillespie SH. W: Wirusowe gorączki krwotoczne, Urban & Partner, Wrocław, 1998; Wyd. I polskie pod red. J. Juszczyka; str. 413–7.
2. Brouckaert P, Fiers W. Tumor necrosis factor and the systemic inflammatory response syndrome. W: Rietschel ET, Wagner H, red. Pathophysiology of septic shock. (Curr Top Microbiol Immunol), Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1996; str. 167–87.
3. Collan Y, Lahdevirta J, Jonkinen EJ. Electron microscopy of nephropathia epidemica. Renal tubular basement membrane. Am J Pathol 1978; 92: 67–74.
4. Feldmann H, Kiley MP. Classification, structure, and replication of filoviruses. W: Klenk HD, red. Marburg and Ebola viruses. Springer, Berlin, etc., 1998; str. 1–21.
5. Feldmann H, Klenk HD. Marburg and Ebola viruses. Adv Virus Res 1996; 47: 1–52.
6. Fischer-Hoch SP, Platt GS, Lloyd G, Simpson DIH. Haematological and biochemical monitoring of Ebola infection in rhesus monkeys: implication for patients management. Lancet 1983; 1, 1055–8.
7. Fischer-Hoch SP, McCormick JB. Experimental filovirus infections. W: Klenk HD, red. Marburg and Ebola viruses. Springer, Berlin, etc., 1998; str. 117–143.
8. Geibert T, Jaax NK. Marburg hemorrhagic fever: report of a case studied by immunohistochemistry and electron microscopy. Ultrastruct Pathol 1998; 22: 3–17.
9. Geisbert TW, Jahrling PB, Hanes MA, Zack PM. Association of Ebola-related Reston virus particles and antigen with tissue lesions of monkey imported to the United States. J Comp Pathol 1992; 106: 137–52.

10. Georges AJ, Renautt AA, Bertherat E i in. Recent Ebola virus outbreaks in Gabon from 1994 to 1996: epidemiologic and control issues. International Colloquium on Ebola Virus Research, Antwerp, Belgium, 1996; str. 47.
11. Gotsch U, Jäger U, Dominis M, Vestweber D. Expression of P-selectin on endothelial cells is upregulated by LPS and TNF- α in vivo. *Cell Adhes Commun* 1994; 2: 7-14.
12. Grob C. Tissue factor initiation of disseminated intravascular coagulation in filovirus infection. *Med Hypotheses* 1995; 45: 380-2.
13. Han X, Becker K, Degen HJ i in. Synergistic stimulatory effects of tumor necrosis factor alpha and interferon gamma on replication of human immunodeficiency virus type I and on apoptosis of HIV-1 infected host cells. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 286-92.
14. Heller MV, Saavedra MC, Falcoff R i in. Increased tumor necrosis factor-levels in Argentine hemorrhagic fever. *J Infect Dis* 1992; 166: 1203-4.
15. Ignatyev GM, Blinov VM, Vochkov VE i in. New aspects in the phenomenon of immunosuppression caused by filoviruses. IX International Congress of Virology, Glasgow, Scotland, 1993; str. 299.
16. Juszczak J. Zarys patogenezy posocznicy. *Przegl Epidemiol* 2000; 54: 150-7.
17. Klenk HD. Marburg and Ebola viruses, Springer, Berlin, etc., 1998.
18. Leroy EM, Baize S, Volchkov VE i in. Human asymptomatic Ebola infection and strong inflammatory response. *Lancet* 2000; 355: 2210-5.
19. Levi M, Ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med*. 1999; 341: 586-92.
20. Moll T, Dejana E, Vestweber D. In vitro degradation of endothelial catenins by a neutrophil protease. *J Cell Biol* 1998; 140: 403-7.
21. Peters CJ, Johnson KM. Viral hemorrhagic fevers. W: Hoepflich PD, Jordan MC, Ronald AR, red. Infectious diseases. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1994, str. 924-9.
22. Peters CJ, Khan AS. W: Klenk HD, red. Marburg and Ebola viruses. Springer, Berlin, etc., 1998, str. 85-95.
23. Peters CJ, Sanchez A, Rollin PE. Filoviridae: Marburg and Ebola viruses. W: Fields BN, Knipe DM, red. Wyd. 3. Virology. Raven, Philadelphia, 1996, str. 1161-76.
24. Peters CJ. Pathogenesis of viral hemorrhagic fevers. W Nathanson N, Ahmed R, Scarano F, Griffin D, Holmes KV, Murphy FA, Robinson HL, red. Viral pathogenesis. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1996, str. 779-99.
25. Penttinen K, Lahdevirta J, Kekomaki R i in. Circulating immune complexes, immunoglobulins, and rheumatoid factors in nephropathia epidemica. *J Infect Dis* 1981; 143: 15-21.
26. Ryabchikova EI, Kolesnikova LV, Tkachev VK i in. Ebola infection in four monkey species. Ninth International Conference on Negative Strand RNA Viruses, Estoril, Portugal, 1994; Abstract 246:164.
27. Schnittler HJ, Feldmann H. Molecular pathogenesis of filovirus infections: role of macrophages and endothelial cells, w: Klenk HD Marburg and Ebola viruses, Springer, Berlin, etc., 1998; str. 175-203.
28. Schwarz TF, Nsanze H, Ameen AM. Clinical features of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the United Arab Emirates. *Infection* 1997; 25: 364-7.
29. West E, Schnittler HJ, Sprenger H, Klenk HD, Feldmann H. Filoviral replication in human macrophages. 15th Annual Meeting of the American Society of Virology, London, Ontario, Canada, 1996; Abstract W 14-3, str. 107.
30. Yang Z, Delgado R, Xu L i in. Distinct cellular interactions of secreted and transmembrane Ebola virus glycoproteins. *Science* 1998; 279: 1034-7.

31. Zaki SR, Goldsmith CS. Pathologic features of filovirus infections in humans. W: Klenk HD Marburg and Ebola viruses, Springer, Berlin, etc., 1998, str. 97-115.

Adres autora:

Jacek Juszczak

Klinika Chorób Zakaźnych

Instytutu Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych

Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego

ul. Kartuska 13

60-471 Poznań

DANUTA SEROKA

HANTAWIRUSOWA EUROPEJSKA GORĄCZKA KRWOTOCZNA

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny
Kierownik: prof. dr hab. med. Wiesław Magdzik

Gorączki krwotoczne wywoływane przez wirusy z rodzaju *Hantavirus* są chorobami odzwierzęcymi, trwale obecnymi na kontynencie azjatyckim, amerykańskim i europejskim.

Krażenie hantawirusów w przyrodzie utrzymują powszechnie obecne małe gryzonie, otaczające i penetrujące środowisko człowieka. Hantawirusy nie powodują epizootii wśród gryzoni. Zakażone chronicznie zwierzęta wydalają wirus z moczem, śliną i kałem, nasycając nim teren swego bytowania i tworząc trudne do ominięcia przez człowieka źródła zakażenia. Szczególnie wysokozakaźne są wydaliny i wydzieliny myszy i nornic; po zakażeniu – ślina i kał tych zwierząt stają się zakaźne przez kilka tygodni, mocz – przez wiele miesięcy. Krótsza jest zaraźliwość szczurów. W warunkach doświadczalnych zakażenie wśród gryzoni szerzyło się łatwo drogą oddechową.

Choroba dotyka ludzi w sile wieku, 20–50 lat, głównie mężczyzn. Choruje wojsko w warunkach polowych, rolnicy, hodowcy zwierząt laboratoryjnych, zoolodzy, pracownicy budowlani (wykopy pod fundamenty), myśliwi, turyści na biwakach a nawet gracze w golfa. Człowiek zakaża się poprzez zakażoną żywność i zakażony pył. Wirus wnika do organizmu przez uszkodzoną skórę, drogi oddechowe, przewód pokarmowy. Chory człowiek nie zakaża swego otoczenia. (5, 10, 11, 18).

Hantawirusy, obok ich patogennego znaczenia dla zdrowia i życia człowieka, są pasjonującym modelem do badań współzależności pomiędzy gatunkiem zwierzęcego gospodarza i właściwościami biologicznymi (wirulencja) i genetycznymi wirusa. Zainteresowanie hantawirusami staje się coraz szersze, co przyczynia się do wykrywania wciąż nowych wirusów (4) (Tabela I).

W rozpoznawaniu zakażenia hantawirusami u ludzi i zwierząt szeroko stosowana jest serodiagnostyka (metoda pośredniej immunofluorescencji, odczyn ELISA). Wyniki serologiczne wskazują na obecność antygeny wirusa w zakażonym organizmie człowieka i zwierzęcia; izolacja wirusa (komórki VERO-E6) oraz wyniki metody RT-PCR i metody sekwencjonowania materiału genetycznego są podstawą do określenia pokrewieństwa lub różnic pomiędzy szczepami (13):

Wśród dotychczas opisanych 29 prototypowych szczepów hantawirusów, 10 jest potwierdzonym wirusologicznie i epidemiologicznie czynnikami etiologicznym ciężkiej choroby człowieka, przebiegającej z objawami klinicznymi ze strony płuc lub nerek (4, 8, 10, 11).

Tabela I. Hantawirusy chorobotwórcze dla człowieka (według 4)

Wirus	Nazwa skrócona	Źródło izolacji	Pochodzenie szczepu	Objawy choroby
Hantaan	HTN	<i>Apodemus agrarius</i>	Korea	HFRS
Seoul	SEO	<i>Rattus norvegicus</i> , <i>R. rattus</i>	Korea	HFRS
Dobrava-Belgrade	DOB	<i>Apodemus flavicollis</i>	Słowenia	HFRS
Puumala	PUU	<i>Clethrionomys glareolus</i>	Finlandia	HFRS NE
Sin Nombre	SN	<i>Peromyscus maniculatus</i>	Nowy Meksyk	HPS
New York	NY	<i>Peromyscus leucopus</i>	Nowy Jork	HPS
Black Creek Canal	BCC	<i>Sigmodon hispidus</i>	Floryda	HPS
Bayou	BAY	<i>Oryzomyus palustris</i>	Luizjana	HPS
Laguna Negra	LN	<i>Calomys laucha</i>	Paragwaj	HPS
Andes	AND	<i>Oligoryzomys longicaudatus</i>	Argentyna	HPS

HFRS – gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym

HPS – hantawirusowy zespół płucny

NE – nefropatia epidemiczna

Obecność chorobotwórczych hantawirusów na kontynencie europejskim ilustruje tabela II.

Tabela II. Hantawirusy patogenne dla człowieka występujące w Europie (według 2, 13, 18)

Kraj	Wirus			
	PUU	DOB	HTN	SEO
Rosja – tereny europejskie	+		+	+
Finlandia	+			
Szwecja	+			
Norwegia	+	+		
Estonia				
Belgia				
Holandia	+			
Niemcy	+			
Francja	+			
Czechy	+			
Słowacja	+			
Półwysep Bałkański	+	+		

¹⁾ najwyższa w Europie zapadalność na terenach Baszkirii

W Europie, wirusologicznie i genetycznie potwierdzone jest krążenie szczepów wirusa PUU i DOB. Przy zastosowaniu możliwych obecnie precyzyjnych metod diagnostycznych, proponowana jest „rewizja” diagnostyczna obecności na kontynencie europejskim wirusów HTN i SEO (13).

Przebieg choroby wiązany zwykle ze szczepem zakażającym (postać HFRS wywołwana przez wirus Hantaan i Seoul i postać NE przy zakażeniu szczepem Puumala), zależy również od gatunku gryzonia, przenoszącego zakażenie. Wirusy, których źródłem są nornice, są mniej wirulentne niż wirusy przenoszone przez myszy (2).

Problem ten był szczególnie uważnie rozważany w przypadku podjęcia podejrzenia, że w Europie (w Niemczech) może być obecny hantawirus, wywołujący zespół płucny (16).

Gryzonie, stanowiące główne źródła zakażenia hantawirusami w Europie, przedstawia tabela III. Zakażone hantawirusami mogą być koty, dla których gryzonie stanowią ważną część ich pożywienia (14). W Korei wyizolowano wirus Hantaan z płuc nietoperzy *E. Serotinus* i *R. ferrum-equinum*.

Tabela III. Główne zwierzęce źródła zakażenia Hantawirusami w Europie (według 13, 18)

Gryzoń	Kraj						
	Rosja*	Białoruś	Ukraina	Litwa	Estonia	Skandynawia	Półwysep Bałkański
Mysz polna (<i>Apodemus agrarius</i>)	+		+	+	+		+
M. zaroślowa (<i>A. Sylvaticus</i>)	+		+				
M. leśna (<i>A. flavicollis</i>)	+	+	+	+			+
M. domowa (<i>Mus musculus</i>)	+		+				
Nornica ruda (<i>Clethrionomys glareolus</i>)	+	+	+	+	+	+	+
Nornik zwyczajny (<i>Microtus arvalis</i>)	+	+	+		+		
Ryjówka aksamitna (<i>Sorex araneus</i>)	+	+					
Szczur wędrowny (<i>Rattus Norvegicus</i>)	+		+				
Szczur śniady (<i>R. rattus</i>)	+		+				

* terytorium europejskie

Najwięcej przypadków gorączki hantawirusowej z zespołem nerkowym rejestruje się w Rosji; w Rosji też, na szeroko skalę zakrojone, prowadzono badania gryzoni w kierunku zakażenia i siewstwa hantawirusów. Blisko 300 000 małych ssaków, należących do 75 rodzajów, było przebadanych metodą ELISA; obecność antygeny w płucach wykryto u 52 rodzajów, w tym u 30 – zasiedlających teren Rosji europejskiej. Wyniki te warunkuje rozległy i różnorodny pod względem ekologicznym obszar Rosji, bogaty w różnorodną faunę i florę. Należy również podkreślić wieloletnią tradycję i doświadczenie rosyjskich naukowców w zakresie badań naturalnych ognisk chorób zakaźnych. W latach 1978–1995 Min. Zdrowia Rosji zgłosiło 87 832 przyp. zachorowań ludzi na HFRS, głównie (w 96,4%) z terenu Rosji europejskiej; tylko w 1997 roku zarejestrowano 20 921 zachorowań i 81 zgonów. Najwyższa zapadalność w Europie występuje w Baszkirii, osiągając na niektórych jej terenach wskaźnik 320 zachorowań na 100 000. Zachorowania w europejskiej części kraju przebiegają łżej; śmiertelność nie przekracza 2%. Należy sądzić, że czynnikiem etiologicznym jest wirus Puumala. Wirus Hantaan lub Hantaan-pokrewny, powoduje ciężki przebieg zachorowań z objawami gorączki krwotocznej i uszkodzeniem nerek, i śmiertelnością 10–15% na terenie daleko-wschodniej Rosji. Przegląd serologiczny ludności wykazuje obecność przeciwciał, zależnie od terenu, u 0,1–12% badanych (15, 18).

Endemicznym terenem dla hantawirusowych zakażeń jest Skandynawia (3, 6, 12, 13, 17).

Zapadalność w Szwecji wynosi średnio rocznie 7 na 100 000. Belgia, Holandia, Francja, Niemcy, Czechy, Słowacja, Grecja i państwa b. Jugosławii – regularnie zgłaszają serologicznie potwierdzone sporadyczne zachorowania lub ogniska epidemiczne.

Na Półwyspie Bałkańskim, głównie na obszarach dawnej Jugosławii, zapadalność w roku 1989 osiągnęła 30,5 na 100 000. Zachorowania ludzi (szczególne problemy wojska) poprzedziły lata dynamicznego wzrostu populacji gryzoni. Badania serologiczne wybranych grup zawodowych wykazały obecność przeciwciał u 0–14% badanych w Słowenii, 0–9% – w Chorwacji, 14% – w Grecji (1, 2, 5).

Należy przypuszczać, że na terenie Polski są dotychczas nierozpoznane zwierzęce źródła zakażenia hantawirusami, prawdopodobnie wirusem Puumala, jak również nierozpoznane zachorowania ludzi. Brak w laboratoryjnej praktyce wirusologicznej diagnostyki zakażeń hantawirusowych stanowi lukę w rozpoznawaniu zagrożeń chorobami odzwierzęcymi w kraju.

Metody zapobiegania zakażeniom hantawirusami w środowisku naturalnym są bardzo ograniczone. Człowiek może się bronić przed zakażeniem, chroniąc żywność przed penetracją gryzoni oraz – na terenach endemicznych – wszelkie biwaki (wojskowe, turystyczne, osób pracujących na polach przy zbiorach plonów) należy organizować na terenach otwartych, bez zarośli i widocznej obecności licznych nor gryzoni. Pracownicy hodowli laboratoryjnych gryzoni powinni być okresowo badani serologicznie w kierunku zakażenia hantawirusami, zaś zakażone zwierzęta powinny być usypiane.

PIŚMIENNICTWO

1. Autoniades A. i in. Isolation of a Hantavirus from a severely ill patient with HFRS in Greece. *J Inf Dis* 1987; 156: 1010–12.

2. Avsic-Zupanc T. HFRS in the Balkans. W: Lee HW, Calisher C, Schmaljohn C red. Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome. WHO, Seoul, 1998, 60-2.
3. Brummer-Korvenkontio M., Vaheri A. i in. Nephropathia epidemica: detection of antigen in bank voles and serologic diagnosis of human infection. *J Inf Dis* 1980; 141: 131-4.
4. Calisher CH, Schmaljohn CJ. Classification of Hantaviruses. W: Lee HW, Calisher C, Schmaljohn C red. Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome. Seoul, WHO, 1998, 13-6.
5. Clement J, Mc Kenna P i in. Hantaviruses. W: Palmer SR, Soulsby L, Simpson DIH, red. Zoonoses, Oxford University Press 1998, p. 332.
6. Eurosurveillance. The surveillance of Puumala virus infections in Finland. September, 1995, 3.
7. Gligic A i in. Belgrade virus: a new Hantaviruses causing severe hemorrhagic fever with renal syndrome in Yugoslavia. *J Inf Dis* 1992; 166: 113-20.
8. Kahn AS i in. Hantavirus pulmonary syndrome: the first 100 US cases. *J Inf Dis* 1996; 173: 1297-303.
9. Kim GR, Lee YT, Park CH. A new natural reservoir of hantavirus; isolation of hantaviruses from lung tissues of bats. *Arch Virol* 1994; 134: 85-95.
10. Lee HW. Epidemiology and Epizootology. W: Lee HW, Calisher C, Schmaljohn C red. Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome. WHO, Seoul, 1998, 40-8.
11. Majda-Stanisławska D, Krzemiński Z. Choroby wywołane przez Hantawirusy. *Przegl Epidemiol* 1998; 52: 245-53.
12. Niklasson B, Le Duc JW. Epidemiology of nephropathia epidemica in Sweden. *J Inf Dis* 1987; 155:2, 269-76.
13. Niklasson B, Lundkvist A. HFRS in Europe. W: Lee HW, Calisher C, Schmaljohn C red. Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome. WHO, Seoul, 1998, 58-9.
14. Nowotny N i in. Hantavirus infection in the domestic cat. *JAMA* 1994; 272: 1100-1.
15. Oniszczenko GG. Morbidity of zoonothronotic and natural foci infections and measures of their prophylaxis. *Zh Microbiol* 1989; 4: 14-8.
16. Rollin PE i in. Hantavirus pulmonary syndrome in Germany. *Lancet* 1996; 347: 1416-7.
17. Settergren B i in. Hemorrhagic complications and other clinical findings in nephropathia epidemica in Sweden: a study of 355 serologically verified cases. *J Inf Dis* 1988; 157: 380-2.
18. Tkachenko E i in. HFRS in Eurasia: Russia and the republics of the former USSR. W: Lee HW, Calisher C, Schmaljohn C red. Manual of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome and Hantavirus Pulmonary Syndrome. WHO, Seoul, 1998, 49-57.

The first part of the paper is devoted to a general discussion of the problem of the origin of the human species. It is shown that the evidence is consistent with the view that man is a recent arrival in the New World, and that the first settlers were of African descent. This view is supported by the fact that the majority of the genetic markers found in the New World are of African origin.

The second part of the paper is devoted to a detailed study of the genetic markers found in the New World. It is shown that the majority of the markers are of African origin, and that the remaining markers are of European and Asian origin. This is consistent with the view that the first settlers were of African descent, and that subsequent waves of migration brought European and Asian populations to the New World.

The third part of the paper is devoted to a study of the genetic markers found in the New World. It is shown that the majority of the markers are of African origin, and that the remaining markers are of European and Asian origin. This is consistent with the view that the first settlers were of African descent, and that subsequent waves of migration brought European and Asian populations to the New World.

The fourth part of the paper is devoted to a study of the genetic markers found in the New World. It is shown that the majority of the markers are of African origin, and that the remaining markers are of European and Asian origin. This is consistent with the view that the first settlers were of African descent, and that subsequent waves of migration brought European and Asian populations to the New World.

The fifth part of the paper is devoted to a study of the genetic markers found in the New World. It is shown that the majority of the markers are of African origin, and that the remaining markers are of European and Asian origin. This is consistent with the view that the first settlers were of African descent, and that subsequent waves of migration brought European and Asian populations to the New World.

REFERENCES

1. Cavalli-Sforza, L. L. *Genetics and Human Evolution*. New York: McGraw-Hill, 1971.

2. Cavalli-Sforza, L. L., and Menzies, P. W. *Genetics and Human Evolution*. New York: McGraw-Hill, 1971.

OBRAZY KLINICZNE WYBRANYCH WIRUSOWYCH GORĄCZEK KRWOTOCZNYCH

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM w Bydgoszczy
Kierownik: Prof. dr hab. med. W. Halota

Gorączki krwotoczne to jednostki chorobowe o różnorodnej etiologii wirusowej. Rezerwuarem tych chorób są zwierzęta. Człowiek zakażony zostaje przypadkowo. Do transmisji zakażeń najczęściej wymagany jest bliski kontakt z osobnikami zakażonymi, ich odchodami lub krwią, niekiedy przenoszą się one przy udziale przenosicieli. Nierzadko dochodzi do zakażeń laboratoryjnych i szpitalnych. W większości gorączek krwotocznych chory człowiek stanowi tzw. „ślepe ogniwo zakażenia” (spillover host) (16).

W obrazach chorobowych dominują gorączka i skaza krwotoczna. Nasilenie i rozległość skazy determinują przebieg kliniczny gorączki krwotocznej. Podejrzenie choroby tej etiologii wymaga dokładnego zebrania wywiadu a też dostępu do kompetentnego laboratorium diagnostycznego. Poniżej przedstawiono wirusy odpowiedzialne za wywoływanie gorączek krwotocznych oraz związane z nimi zespoły i jednostki chorobowe (4).

Arenawirusy

- Lassa wirus – gorączka Lassa
- Junin wirus – argentyńska gorączka krwotoczna (AHF)
- Machupo wirus – boliwijska gorączka krwotoczna (BHF)
- Guanarito wirus – wenezuelska gorączka krwotoczna
- Sabia wirus – brazylijska gorączka krwotoczna

Filowirusy

- Ebola wirus – gorączka Ebola
- Marburg wirus – choroba małych zielonych

Bunyaviridae

- Hantavirus – gorączka krwotoczna z zespołem nerkowym
- hantawirusowy zespół płucny
- nefropatia epidemiczna
- Nairovirus – Kongijsko-Krymska gorączka krwotoczna
- Phlebovirus – gorączka Doliny Rift (RVF)

Togaviridae

- YFV – żółta gorączka
- DEN 1 – 4-denga typowa, krwotoczna (DHF), wstrząsowa (DSS) (15)
- choroba lasu Kyasanur
- Omska gorączka krwotoczna

GORĄCZKA LASSA I INNE CHOROBY WYWOŁANE PRZEZ ARENAWIRUSY

Gorączkę Lassa rozpoznano po raz pierwszy w 1969 r. w Afryce Zachodniej. Wirus wyizolowany od 3 chorych wówczas osób nazwano Lassa od nazwy miejscowości, w której zachorowała misjonarka. Endemie występują nadal, a w tamtejszych populacjach wykrywa się wykładniki przebytej infekcji. Naturalnym rezerwuarem jest szczur *Mastomys natalensis*, bezobjawowy nosiciel (12).

Okres wylęgania choroby wynosi od 3 do 17 dni, przeciętnie 7 do 10.

Choroba zaczyna się ostro gorączką, dreszczami, osłabieniem, bólami głowy i uogólnionymi. Cięższe przypadki przebiegają podobnie jak dur brzuszny, z charakterystycznym obniżonym ciśnieniem i względną bradykardią. Na obraz choroby składają się również bóle gardła, wymioty, bóle brzucha i klatki piersiowej. Dominuje nieproporcjonalne do gorączki krańcowe osłabienie. U wielu pacjentów obserwuje się nastrzyknięcie spojówek, zaczerwienie gardła, białe i żółte naloty na migdałkach oraz drobne pęcherzykowe uszkodzenia i owrzodzenia błony śluzowej jamy ustnej. Na skórze może pojawić się delikatna plamisto-grudkowa wysypka. Po 5 dniach choroby dochodzi do skazy krwotocznej. Stan chorego wówczas jest ciężki, o czym przesądzają: wysoka, stała gorączka, toksemia, krwotoki, wstrząs, wysięki surowicze i zaburzenia ze strony CUN. Śmiertelność wśród tych chorych wynosi około 50%. Jeśli chory przeżyje, to po 3–4 tygodniach choroby nierzadkie jest powikłanie w postaci głuchoty.

Szacuje się, że 70–90% zakażeń przebiega bezobjawowo lub lekko ze śmiertelnością nie większą niż 1–2, przy czym wśród pacjentów o średnio-ciężkim przebiegu śmiertelność szacuje się na około 15–20% (10).

Choroba jest klasycznym przykładem gorączki nieznanego pochodzenia. Należy ją różnicować głównie z malarią, drem brzuszny, riketsjozami i posocznicami. Hospitalizacja powinna się odbywać na specjalnie zabezpieczonych oddziałach (high-security infectious diseases units) (11).

Nadzór epidemiologiczny nad osobami z kontaktu polega na systematycznym mierzeniu temperatury. Trwają próby nad skutecznością chemioprophylaktyki przy pomocy rybawiryny u osób eksponowanych.

Inne gorączki wywoływane przez arenawirusy przebiegają podobnie do gorączki Lassa. Argentynska gorączka krwotoczna wywoływana przez wirus Junin częściej przebiega z objawami neurologicznymi. Nie wykryto dotychczas przypadków przeniesienia tej choroby od człowieka (9). Podobnie sądzi się o boliwijskiej gorączce krwotocznej, aczkolwiek opisano 1 przypadek prawdopodobnego przeniesienia zakażenia Machupo z męża na żonę. Wszystkie „nowe” arenawirusy wywołują choroby podobne do gorączki Lassa, rzadko spotyka się lekkie przebiegi. Skaza krwotoczna jest różnie nasiloną. Częstym powikłaniem jest obrzęk płuc i krwotoki. W gorączce argentyńskiej i boliwijskiej śmiertelność szacuje się na około 15% (1).

Guanaritto wywołuje wyłącznie sporadyczne zachorowania. Wirusa Sabia wyizolowano w 1990 r. od osoby, która umarła w przebiegu gorączki krwotocznej. Dwa dalsze zachorowania, które wystąpiły u pracowników miejscowego laboratorium zakończyły się wyzdrowieniem (8, 18).

GORĄCZKA EBOLA

Nazwa pochodzi od rzeki rejonu epidemii, która miała miejsce w 1976 roku w Zairze i Sudanie. Była to pierwsza epidemia, która zwróciła uwagę świata, o śmiertelności bliskiej 90%.

Do zakażeń dochodzi w wyniku bliskiego kontaktu między ludźmi. Droga kropelkowa wydaje się nie mieć znaczenia. Rezerwuarem są prawdopodobnie gryzonie.

Okres wylęgania wynosi od 4 do 16 dni. Choroba zaczyna się nagle gorączką, bólami głowy, kończyn i kręgosłupa. Niekiedy występuje biegunka i wymioty, często suchy kaszel i zapalenie gardła. Około 5-tego dnia choroby występuje skaza krwotoczna w postaci krwawień z dziąseł, błon śluzowych i wybroczyn na skórze. U ciężarnych krwotoki z macicy powodują poronienia i porody przedwczesne. Pacjenci umierają między 4 a 10-tym dniem choroby, zdrowieją bardzo wolno (3, 14, 20, 21).

CHOROBA MAŁP ZIELONYCH

Ostrą chorobę gorączkową po raz pierwszy rozpoznano w 1967 roku w czasie epidemii wśród pracowników laboratoriów w Niemczech i Jugosławii. Śródłem były zakażone tkanki pochodzące od afrykańskich małp zielonych *Cercopithecus aethiops* importowanych z Ugandy. Później wystąpiły zakażenia między ludźmi. W sumie zachorowania dotyczyły 31 osób, w tym 6 wtórnie zakażonych. Wśród nich było 7 przypadków śmiertelnych.

W 1976 r. ciężkie przypadki gorączki krwotocznej wystąpiły w Zairze i Sudanie. Wśród ponad 550 przypadków zachorowań wystąpiło 430 zgonów. Śmiertelność w Zairze wynosiła 88% a w Sudanie około 50%.

Okres wylęgania wynosi od 4-10 dni. Choroba rozpoczyna się gorączką, bólami głowy i mięśni oraz osłabieniem. Często towarzyszy im zapalenie spojówek i bradykardia. Zwiastunem niekorzystnego przebiegu choroby jest pojawienie się w 2-3 dniu nasilonych nudności i wymiotów prowadzących do krwawienia z przewodu pokarmowego.

W chorobie tej często około 5-tego dnia występuje plamisto-grudkowa wysypka, złuszczejąca się u tych którzy przeżyli. Śmierć najczęściej występuje między 6-9 dniem (1-21 dni) w przebiegu wstrząsu. Poronienia, porody przedwczesne zakażonych płodów to częste powikłania tych zakażeń u ciężarnych. Zdrowienie może trwać powyżej 5 tygodni, długo utrzymuje się osłabienie, utrata masy ciała, amnezja wsteczna (2, 5).

CHOROBY WYWOŁANE PRZEZ HANTAWIRUSY

W 1993 r. wcześniej nieznaną w USA grupą wirusów wywołała ostrą chorobę o przebiegu śmiertelnym nazwaną Hantavirus pulmonary syndrome (HPS). Do tego czasu wirusy te były znane z wywoływania gorączki krwotocznej z niewydolnością nerek (HFRS), choroby która występuje głównie na Wschodniej Półkuli. HFRS wywoływane jest przez 3 wirusy z rodzaju Hantawirus, rodziny Bunyviridae. Nie ma reakcji krzy-

zowych pomiędzy tymi wirusami. Różnicą pomiędzy HPS a HFRS jest organ docelowy – płuco lub nerki oraz brak rozpowszechnionych ognisk krwotocznych i martwicy krwotocznej w HPS pomimo, iż w obu tych chorobach występuje trombocytopenia oraz obie są „zespołami przecieku włósniczkowego” (22).

Niekiedy HPS wywołany przez wirus Sin Nombre przebiegał z przednerkową niewydolnością nerek oraz zapaleniem mięśni. Częściej jednak wzrost aktywności kinazy kreatyninowej występował w zakażeniach wirusami Andes, BAY i BCC. Ostatnio opisano w Paragwaju HPS wywołany przez nowy Hantawirus przenoszony przez mysz *Calomys laucha*.

HFRS jest grupą chorób o podobnych objawach występujących w Eurazji i okolicach. Należą tutaj takie choroby jak: koreańska gorączka krwotoczna, epidemiczna gorączka krwotoczna i nefropatia epidemiczna. Do zakażeń wśród ludzi doprowadza „ścisły kontakt” z gryzoniami, dla których hantawirus nie jest patogenny. Dotychczas nie wykazano zakażeń szpitalnych, które są możliwe drogą krwiopochodną.

Szacuje się, że rocznie na świecie występuje 150 – 200 tysięcy przypadków HFRS. W przebiegu choroby wyróżnia się pięć następujących po sobie okresów: gorączki, hypotensji, skąpomoczu, wielomoczu oraz zdrowienia. Niekiedy, niektóre stadia nie występują. Okres wylegania wynosi przeciętnie od 12 do 20 dni. Śmiertelność zależy często od poziomu opieki medycznej, z której korzysta chory (właściwa, intensywne opieka medyczna oraz dostępność dializoterapii).

Choroba najczęściej rozpoczyna się nagle, silnym bólem głowy, brzucha i grzbietu, gorączką i dreszczami. Jeśli zdarza się skaza krwotoczna, to występuje ona w fazie gorączkowej jako zaczerwienienie twarzy lub nastrzyknięcie spojówek i błon śluzowych. Mogą występować punkcikowate wybroczyny, najczęściej na podniebieniu i w dołach pachowych. Nasiloną albuminuria około 4 dnia, a też wysoka leukocytoza zwiastują ciężki przebieg HFRS. Po zakończeniu okresu gorączkowego pojawia się nagły spadek ciśnienia trwający przez godziny lub dni z towarzyszącymi wymiotami i nudnościami. Stadium hipotensji rozpoczyna się nagle, trwa od kilku godzin do 3 dni. Średnio nasiloną hipotensja występuje u połowy chorych, u 10–15% występuje wstrząs. W tym czasie może wystąpić plamica i krwawienia śluzówkowe w układzie oddechowym, moczowo-płciowym i pokarmowym oraz masywna proteinuria. Faza skąpomoczu trwa 3–7 dni, występuje u 70% pacjentów. Ciśnienie zaczyna się podwyższać, przechodząc w nadciśnienie. Przedłużające się nadciśnienie źle rokuje. Narasta skłonność do krwawień, również mózgowych. Upośledzenie przesączania kłębkowego prowadzi do bezmoczności, w konsekwencji do mocznicy, zaburzeń elektrolitowych, obrzęku płuc i mózgu. Faza wielomoczu pojawia się około połowy drugiego tygodnia, może trwać do kilku tygodni. Związane z tym zaburzenia gospodarki wodno-elektrolitowej zagrażają życiu. Faza zdrowienia trwa 3 lub więcej miesięcy, niekiedy lata. Śmiertelność zależy od przebiegu choroby. Połowa zgonów występuje w fazie skąpomoczu, 1/3 wcześniej, w okresie hipotensji. Śle rokuje przedłużające się w fazie skąpomoczu nadciśnienie tętnicze.

Rozpoznanie chorób wywołanych przez wirusy Hantan jest trudne. Jest to kolejny przykład gorączki o nieznanym etiologii. Niekiedy podejrzenie choroby uzasadniają dane z wywiadu. Stwierdzenie trombocytopenii winno skłonić do wykonania badania w kierunku Hantan (13).

Różnicowanie zależy od miejsca wystąpienia choroby. Najczęściej zaleca się różnicować ją z chorobami w Polsce nie występującymi lub rzadko rozpoznawanymi jak dżuma, gorączka kleszczowa Kolorado, gorączka plamista Gór Skalistych, erlichioza, gorączka powrotna, tularemia, leptospiroza.

GORĄCZKA DOLINY RIFT

Choroba rozprzestrzeniona jest głównie w Afryce Subsaharyjskiej, aczkolwiek epizocje te odnotowano w wielu krajach afrykańskich. Występowanie choroby nasila się w porze deszczowej. Mogą występować wieloletnie okresy zacisza. Po raz pierwszy pojawiła się w Egipcie w 1977r., kiedy zachorowało 200 000 osób, spośród których 598 przypadków zakończyło się zgonem. Również z innych obserwacji wynika, że ponad 90% przypadków charakteryzuje się średnio ciężkim przebiegiem zakończonym wyzdrowieniem. Zgony związane są z powikłaniami takimi jak krwotoki, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu.

Okres wylegania wynosi od 2 do 6 dni. Początek choroby jest zazwyczaj nagły, połączony z wystąpieniem bólów głowy, grzbietu, mięśni oraz narastającym wyczerpaniem. Objawy fizykalne są skąpe, ograniczone do nastrzyknięcia spojówek, zapalenia gardła, niekiedy krwotoków z nosa. Gorączka ma charakterystyczny dwuszczytowy przebieg. Najczęściej choroba trwa 2-5 dni. Skaza krwotoczna występuje u około 1% chorych. Charakteryzuje się różnym nasileniem, od punktowatych wybroczyn do krwistych wymiotów i smolistych stolców włącznie. Niekiedy występuje żółtaczką. Zapalenie mózgu występuje 5-10 dni po ostrym epizodzie gorączkowym. Śmiertelność w tych przypadkach wynosi około 10%. Niekiedy powikłaniem choroby jest upośledzenie wzroku wskutek wysięków i krwawień do siatkówki, obrzęku plamki lub zapalenia naczyń siatkówki. W 50% dotyczy obu oczu (7, 19).

KRYMSKO-KONGIJSKA GORĄCZKA KRWOTOCZNA

Choroba często występuje w postaci epidemii szpitalnych, opisano ponad 50 takich przypadków na świecie. Do zakażeń personelu dochodzi drogą kwiopochodną kropelkową. Wśród pracowników laboratoriów szerzy się poprzez aerozole. Choroba przypomina inne, wcześniej opisane gorączki krwotoczne. Za rozpoznaniem przemawia fakt wystąpienia w ciągu 2-3 dni podobnych zachorowań wśród personelu, sąsiednich pacjentów lub członków rodzin.

Okres wylegania wynosi od 2 do 12 dni; średnio 3-4 w przypadku ukąszenia przez kleszcza, od 2 do 7 dni w zakażeniach szpitalnych. U 60% pacjentów choroba rozpoczyna się ostro silnym bólem głowy, gorączką, osłabieniem, bólami mięśni, brzucha, nudnościami i wymiotami. Ma przebieg dwufazowy. Około 6-tego dnia choroby występują krwawienie z nosa i przewodu pokarmowego, wybroczyny na skórze, zwłaszcza kończyn. Występuje duszność, objawy oponowe, w ciężkich przypadkach śpiączka, zamroczenie i śmierć wskutek wstrząsu. Powszechnie występującej leukopenii towarzyszy znaczna trombocytopenia. Śmiertelność jest wyższa w zakażeniach szpitalnych, sięga około 50% (6, 17).

PIŚMIENICTWO

1. Bolivian hemorrhagic fever: EI Beni Department Bolivia, 1994. *MMWR* 1994, 43: 943-6.
2. CDC. Update: Filovirus infection among persons with occupational exposure to nonhuman primates. *MMWR* 1990; 39: 266-7,273.
3. Dalgard DW, Hardy RJ, Pearson SL, i in. Combined simian hemorrhagic fever and Ebola virus infection in cynomolgus monkeys. *Lab Anim Sci* 1992; 42: 152-7.
4. Dziubek Z. Patologia kliniczna wirusowych gorączek krwotocznych. Biuletyn "Biologiczne zagrożenia bezpieczeństwa kraju - ryzyko zakażenia szczególnie niebezpiecznymi patogenami". Mat. konf., Warszawa 2001: 33-6.
5. Fisher-Hoch SP, Brammer TL, Trappier SG, i in. Pathogenic potential of filoviruses: role of geographic origin of primate host and virus strain. *J Infect Dis* 1992; 166: 753-63.
6. Joubert JR, King JB, Rossouw DJ, i in. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part III. Clinical pathology and pathogenesis. *S Afr Med J* 1985; 68: 722-8.
7. Laughlin LW, Meegan JM, Strausbaugh LH, i in. Epidemic Rift Valley fever in Egypt: observations of the spectrum of human illness. *Transc R Trop Med. Hyg* 1979; 73: 630-3.
8. Lisieux T, Coimbra M, Nassar ES, i in. New arenavirus isolated in Brazil. *Lancet* 1994; 343: 391-2.
9. Maiztegui JI, Fernandez NJ, de Damilano AJ. Efficacy of immune plasma in treatment of Argentine haemorrhagic fever and association between treatment and a late neurological syndrome. *Lancet* 1979; 2: 1216-7.
10. McCormick JB, King IJ, Webb PA, i in. A case control study of the clinical diagnosis and course of Lassa fever. *J Infect Dis* 1987; 155: 445-5.
11. McCormick JB, Webb PA, Krebs JW., i in. A prospective study of the epidemiology and ecology of Lassa fever. *J Infect Dis* 1987; 155: 437-44.
12. Monath TP. Lassa fever: review of epidemiology and epizootiology. *Bull WHO* 1975; 52: 577-92.
13. Moolenaar RL, Dalton C, Lipman HB, i in. Clinical features that differentiate hantavirus pulmonary syndrome from three other acute respiratory illnesses. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 643-9.
14. Musong Mea. Update: outbreak of Ebola viral hemorrhagic fever - Zaire, 1995. *MMWR* 1995; 44: 468-9.
15. Pletnev AG, Bray M, Huggins J, Lai CJ. Construction and characterization of chimeric tick-borne encephalitis/dengue type 4 viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10532-6.
16. Seroka D. Wirusowe gorączki krwotoczne. Biuletyn "Biologiczne zagrożenia bezpieczeństwa kraju - ryzyko zakażenia szczególnie niebezpiecznymi patogenami". Mat. konf., Warszawa 2001: 37-9.
17. Swanepoel R, Gill DE, Shepherd AJ, i wsp.: The clinical pathology of Crimean-Congo Hemorrhagic fever. *Rev Infect Dis* 1989; 11: 8794-8800.
18. Tesh RB, Jahrling PB, Salas R, i in. Description of Guanarito virus (Arenaviridae: Arenavirus), the etiologic agent of Venezuelan hemorrhagic fever. *Am J Trop Med. Hyg* 1994; 50: 452-9.
19. Van Velden DJJ, Meyer JD, Olivier J, i in. Rift Valley fever affecting humans in South Africa: a clinicopathological study. *S Afr Med J* 1977; 29: 867-87.
20. WHO/International Commission to Zaire. Ebola hemorrhagic fever in Zaire, 1976. *Bull WHO* 1978; 56: 271-93.

21. World Health Organization. Viral haemorrhagic fever in imported monkeys. WHO Weekly Epidemiol Rep 1992; 67: 142-3.
22. Zaki SR, Greer PW, Coffield LM, i in. Hantavirus pulmonary syndrome: pathogenesis of an emerging infectious disease. Am J Pathol 1995; 146: 552-79.

Adres autora:

Waldemar Halota

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM w Bydgoszczy

ul. Floriana 12, 85-030 Bydgoszcz

11. World Health Organization. *World malaria situation: 1998*. Geneva: WHO, 1998.

12. *World malaria situation: 1999*. Geneva: WHO, 1999.

13. *World malaria situation: 2000*. Geneva: WHO, 2000.

14. *World malaria situation: 2001*. Geneva: WHO, 2001.

15. *World malaria situation: 2002*. Geneva: WHO, 2002.

16. *World malaria situation: 2003*. Geneva: WHO, 2003.

17. *World malaria situation: 2004*. Geneva: WHO, 2004.

18. *World malaria situation: 2005*. Geneva: WHO, 2005.

19. *World malaria situation: 2006*. Geneva: WHO, 2006.

20. *World malaria situation: 2007*. Geneva: WHO, 2007.

21. *World malaria situation: 2008*. Geneva: WHO, 2008.

22. *World malaria situation: 2009*. Geneva: WHO, 2009.

23. *World malaria situation: 2010*. Geneva: WHO, 2010.

24. *World malaria situation: 2011*. Geneva: WHO, 2011.

25. *World malaria situation: 2012*. Geneva: WHO, 2012.

26. *World malaria situation: 2013*. Geneva: WHO, 2013.

27. *World malaria situation: 2014*. Geneva: WHO, 2014.

28. *World malaria situation: 2015*. Geneva: WHO, 2015.

29. *World malaria situation: 2016*. Geneva: WHO, 2016.

30. *World malaria situation: 2017*. Geneva: WHO, 2017.

EPIDEMIOLOGIA BORELIOZY Z LYME W POLSCE

Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny

Borelioza z Lyme stanowi w całej Europie narastający problem epidemiologiczny. W ostatnich latach jest to najczęściej występująca u ludzi choroba zakaźna przenoszona przez kleszcze. Jej czynnikiem etiologicznym są krętki *Borrelia burgdorferi* sensu lato, a rezerwuarem zakażenia są różne gatunki ssaków i ptaków. Badania rezerwuaru krętków wykazały brak szczególnego ich powinowactwa tylko do wybranych gatunków gospodarza, to też zasięg występowania i możliwość rozprzestrzeniania się nie są ograniczone przez konieczność osiągnięcia określonych niszy ekologicznych. Krętki *B. burgdorferi* wykrywane są u wszystkich rodzajów i gatunków kręgowców lądowych, będących żywicielami kleszczy. W określonym ekosystemie, w zależności od warunków, kleszcze pasożytują na każdym dostępnym żywicielu, przenosząc jednocześnie krętki *B. burgdorferi*. Prawdopodobnie żywiciel kleszcza może być jednocześnie rezerwuarem *B. burgdorferi*. Duże znaczenie w cyklu krążenia tego drobnoustroju w środowisku naturalnym mają ptaki. Zwłaszcza ptaki wędrowne biorą znaczący udział w przenoszeniu i utrzymaniu w środowisku naturalnym zakażenia *B. burgdorferi* (4).

Dotychczasowe badania nad występowaniem krętków *B. burgdorferi* w środowisku naturalnym, wskazują, że praktycznie na terenie całej Polski występuje zarówno kompetentny rezerwuár jak i przenosiciel zakażenia. Kleszcze *Ixodes ricinus* będące podstawowym wektorem boreliozy z Lyme są dominującym gatunkiem tych pajęczaków na terenie Europy, w tym także Polski. Zakażone krętkami osobniki stwierdzano we wszystkich rejonach kraju, w których prowadzone były badania. W północno-wschodniej Polsce, w województwie białostockim częstość zakażenia kleszczy wynosiła od 4 do ponad 15%, w województwie olsztyńskim – 11%, dochodząc na niektórych stanowiskach do 33%; na terenach rekreacyjnych Trójmiasta stwierdzono obecność 7–13% zakażonych kleszczy. W południowej Polsce, w województwie zamojskim, krakowskim, katowickim odsetek zakażonych kleszczy na wybranych stanowiskach dochodził do 58% (5, 6).

Pierwsze potwierdzone badaniami laboratoryjnymi przypadki boreliozy z Lyme w Polsce, pochodzące z Pomorza Zachodniego z 1987 r., opisali Januskiewicz i Kieda (2). Następnie boreliozę z Lyme stwierdzono w województwie pilskim. W kolejnych latach wraz ze wzrostem liczby badań i doskonaleniem metod diagnostycznych liczba opisanych przypadków wzrasta (5).

Na terenie Puszczy Białowieskiej, wśród zdrowych mieszkańców tego rejonu, swoiste dla *B. burgdorferi* przeciwciała stwierdzono u ponad 40% badanych. Jednocześnie wykazano sezonowość występowania przeciwciał klasy IgM i IgG (1). W Karkonoszach,

u leśników badania wykazały występowanie swoistych przeciwciał u około 36% osób wskazując na zagrożenie tej grupy zawodowej.

Od 1996 roku, po wprowadzeniu obowiązku zgłaszania i rejestracji zachorowań na boreliozę z Lyme, do końca 1999 r. zarejestrowano 3 082 przypadki, a średnia roczna zapadalność wynosiła 1,9 na 100 000. W poszczególnych latach zarejestrowano 656–891 zachorowań. Odsetek chorych hospitalizowanych wynosił w 1996 roku 36,8% i w kolejnych latach wzrastał; w 1999 roku wynosił ponad 60%. Z uzyskanych danych wynika że najczęściej zachorowań występuje w północno-wschodniej Polsce.

Porównując dane dotyczące liczby zachorowań na boreliozę z Lyme w Polsce i w innych krajach europejskich można przypuszczać, że na terenie naszego kraju nie wszystkie przypadki są zgłaszane. Nie stwierdzanie w jakimś rejonie przypadków boreliozy z Lyme nie świadczy o tym, że nie występuje, a raczej o tym, że nie jest rozpoznawana (5).

PIŚMIENNICTWO

1. Flisiak R, Wiercińska-Drapała A, Kalinowska A, Prokopowicz D. Seasonal of antibodies against *Borrelia burgdorferi* in Białowieża Inhabitants. *Annals Academiae Bialostocensis*. 1996; 41: 96–102.
2. Januskiewicz J, Kieda A. Przypadki boreliozy z Lyme na Pomorzu Zachodnim. *Przegl Epidemiol* 1987; 41: 324–9.
3. Report of WHO Workshop on Lyme borreliosis and surveillance. Warsaw 1995.
4. Tylewska-Wierzbanowska S. Wektor i rezerwuar boreliozy z Lyme. W: Barej W, Kita J, red. *Zakażenia wspólne dla ludzi i zwierząt*. Warszawa, Wydawnictwo SGGW 1997: 102–6.
5. Tylewska-Wierzbanowska S, Żabicka J. Borelioza z Lyme. W: Kostrzewski J, Magdzik W, Naruszewicz-Lesiuk D, red. *Choroby zakaźne i ich zwalczanie na ziemiach polskich w XX wieku*. Warszawa Wydawnictwo Lekarskie PZWL; 2001: 153–9.
6. Wegner Z. Occurrence of *Borrelia burgdorferi* spirochaetes in ticks (Acari, Ixodidae) collected in the forest areas in Olsztyn province (north central Poland). *Bull Inst Med* 1993/4; 44/45: 5159.

Adres autorki:

Stanisława Tylewska-Wierzbanowska
Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny
ul. Chocimska 24, 00–791 Warszawa

ALEKSANDRA GLINIEWICZ

KOMARY JAKO WEKTORY ARBOWIRUSÓW W POLSCE

Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych Państwowego Zakładu Higieny

W artykule omówiono znaczenie, jakie mogą mieć komary w transmisji arbowirusów w Polsce.

WSTĘP

Od czasu, kiedy w roku 1877 stwierdzono, że komary biorą udział w przeniesieniu zakażenia mikrofilariami z człowieka na człowieka, odkryto wielką liczbę wirusów, bakterii, pierwotniaków, nicieni, których cykl życiowy jest ściśle powiązany z krwio pijnymi stawonogami.

Programy walki z chorobami przenoszonymi przez owady obejmowały nie tylko zasady profilaktyki zdrowotnej, higieny i opieki medycznej, ale także równolegle prowadzono zwalczanie stawonogów będących wektorami. W ciągu następnych 50 lat uważano, że wiele z tych kompleksowych działań powiodło się. Za przykład mogą służyć tu uznane za zakończone znaczącym ograniczeniem zachorowań programy eliminacji żółtej febry prowadzone na Kubie w latach 1900–1901; w Brazylii (1932); Ameryce (1947–1970); Afryce Zachodniej (1950–1970); malarii – globalnie (1955–1975); onchocerkozji w Afryce Zachodniej (1974–aktualnie) (1). W latach sześćdziesiątych skłaniano się ku pogładowi, że choroby przenoszone przez stawonogi są palącym problemem zdrowotnym jedynie jeszcze na obszarze Afryki. Do tego poglądu przyczyniło się wynalezienie i używanie na masową skalę rezidualnych insektycydów w latach 1940–1970.

Współcześnie okazało się jednak, że wiele z tych chorób powraca lub pojawia się na nowych obszarach, np. w latach 70 – malaria w Indiach i Sri Lance (1); w latach 90 – malaria w Turcji (2). Jakkolwiek przyczyny tego nowego stanu rzeczy są bardzo złożone, wymienia się wśród nich m.in. aktualnie niedostateczną infrastrukturę podstawowej opieki medycznej oraz pokładanie zbyt dużego zaufania w rozwiązaniach doraźnych, jakimi było m.in. masowe stosowanie rezidualnych insektycydów. Coraz większa mobilność ludzi, przekształcanie środowiska oraz wzrost wymiany towarowej mogą przyczynić się do zdobywania przez gatunki wektorowe jak i same patogeny nowych obszarów (3). Przykładem może tu być komar *Aedes albopictus*, który został zawleczony z Azji na kontynent amerykański. Gatunek ten był notowany początkowo w miastach portowych USA, a w roku 1985 stwierdzono po raz pierwszy w Teksasie osiadłą populację (4). Od tego czasu stwierdzono obecność *Aedes albopictus* w 26 stanach. W Azji gatunek ten bierze udział w transmisji wirusa dengi i może być włączony w cykl transmisji tego wirusa w przypadku reintrodukcji tej choroby w Ameryce. Od czasu znalezienia *Aedes albopictus* w Stanach Zjednoczonych, wyizolowano z komarów tego

gatunku 5 arbowirusów: EEE, Cache Valley, Keystone, Tensaw, Potosi (4). Z powodu charakterystyki biologicznej: zoo/antropofilności, preferowania małych, także sztucznych zbiorników wodnych do rozwoju, możliwości życia w środowisku miejskim, gatunek ten jest uważany za jednego z potencjalnych ważnych wektorów w Nowym Świecie. *Aedes albopictus* od roku 1979 (pierwsze doniesienie z terenu Albanii) kolonizuje również Europę. Jego obecność odnotowano także jak dotąd we Włoszech (5), Francji (6). Pojawienie się nowego gatunku o cechach wektora zwłaszcza tam, gdzie istnieją naturalne ogniska arbowirusów, budzi uzasadnione obawy.

Historia epidemii gorączki Zachodniego Nilu w Nowym Jorku w 1999r. (podczas której zmarło 7 osób) może być z kolei przykładem konsekwencji introdukcji czynnika zakaźnego w nowe środowisko, w którym obecne były pozostałe ogniwa cyklu: wektor – komary z rodzaju *Culex* oraz żywicieli pierwotni – ptaki.

BADANIA ARBOWIRUSÓW PRZENOSZONYCH PRZEZ KOMARY W POLSCE I KRAJACH OŚCIENNYCH

W Polsce badania nad możliwością istnienia ognisk naturalnych arbowirusów, których wektorami mogą być komary, prowadzono w latach 60-tych i 70-tych. Przeprowadzone w latach 1965–1967 badania serologiczne w kierunku występowania przeciwciał dla arbowirusów grupy A (antygen WEE i EEE) wykazały, że najwyższe odsetki występowania przeciwciał dla grupy arbo A stwierdzono w dawnym województwie zielonogórskim (3,7%) oraz gdańskim (3,2%) (7).

W roku 1966 wyizolowano wirusy szczepów EEE z komarów oraz z mózgow wędrownych ptaków (*Sylvia curruca*, *Fringilla coelebs*, *Parus major*) (8).

Wyniki prowadzonych badań serologicznych pracowników leśnych sugerowały również, że na terenie Polski występują wirusy Tahyna oraz Calovo (9). Większą liczbę wyników pozytywnych zanotowano w próbach z zachodniej i południowo – zachodniej części Polski.

W latach 90-tych stwierdzono przeciwciała dla gorączki Zachodniego Nilu u wróbli odłowionych w okolicach Warszawy (10).

W krajach ościennych, takich, jak była Czechosłowacja, ZSRR, także w Austrii i państwach skandynawskich stwierdzono, że komary stanowią istotne ogniwo w krążeniu w przyrodzie takich wirusów jak: Tahyna, Calovo, Inkoo, Sindbis, Ocklebo, Batai (11, 12, 13).

W piśmiennictwie dostępne są również doniesienia na temat przypadków gorączki Zachodniego Nilu, które miały miejsce w krajach europejskich.

I tak m.in.: w roku 1999 na Ukrainie zachorowania miały charakter epidemiczny: zarejestrowano 1 000 przypadków, w tym 40 śmiertelnych (14). W Rumunii w roku 1996 wśród 453 przypadków zachorowań na gorączkę Zachodniego Nilu było 9% śmiertelnych (12). W roku 1985 na Ukrainie Zachodniej zanotowano 38 przypadków tej choroby, w 1977r. w okolicach Brześcia odnotowano 2 zachorowania (12).

KOMARY JAKO WEKTORY

W Polsce stwierdzono występowanie 47 gatunków komarów (15). Z tej liczby 9 gatunków to komary znane jako wektory. Są to: *Anopheles maculipennis*, *Aedes cantans*,

Ae. communis, *Ae. cataphylla*, *Ae. punctor*, *Ae. cinereus*, *Ae. vexans*, *Ae. sticticus*, *Culex pipiens* (16).

Z komarów należących do gatunków: *Culex pipiens pipiens*, *Aedes cantans*, *Ae. caspius*, *Ae. vexans*, *Anopheles maculipennis* izolowano wirusy gorączki Zachodniego Nilu, również w krajach europejskich strefy umiarkowanej (12).

W Polsce izolowano szczepy wirusów EEE z samic komarów należących do gatunków *Culex pipiens*, *Aedes punctor* (8). Z doniesień w piśmiennictwie światowym wynika, że w USA wektorami dla wirusów EEE są komary z gatunków *Aedes vexans*, *Ae. comunis*, *Ae. dorsalis* (17), pospolicie występujące także w Polsce.

Aby komar był efektywnym wektorem, powinien spełniać następujące warunki (18):

- 1) samica musi ssać krew wielokrotnie,
- 2) antropo/zoofilność,
- 3) masowe występowanie,
- 4) plastyczność środowiskowa larw.

Komary z wymienionych gatunków warunki te spełniają (18) (tabela I), a ponadto mogą występować na terenie Polski w liczebnościach plagowych. W takich sytuacjach może zwiększyć się prawdopodobieństwo także mechanicznego przenoszenia patogenów nie rozwijających się w ciele owada, ale dostających się z wysaną krwią do ciała samicy podczas kolejnych pobrań. Możliwość taką rozpatrują Żółtowski i in (19). Badali oni samice komarów zakażone wirusami kleszczowego zapalenia mózgu (kzm) w naturalnym ognisku tej choroby – w Puszczy Białowieskiej (20, 21). Komary nie są czynnymi wektorami kzm, ale przeprowadzone badania sugerowały, że w naturalnych ogniskach kleszczowego zapalenia mózgu owady te mogą mechanicznie przenieść patogeny poprzez kilkukrotne ssanie krwi w krótkim okresie czasu.

Tabela I. Tolerancja na niektóre czynniki środowiska (pH, stężenie Cl) larw wybranych gatunków komarów (wg Harksen, Monke, Schumann 1976, za Wegner, 1999).

Range of tolerance showed by mosquito larvae from selected species to chosen environmental factors of (acc. to Harksen, Monke, Schumann 1976, in Wegner, 1999)

Gatunek	Wartości czynników		Liczba pokoleń w sezonie
	pH	Stężenie Cl	
<i>Anopheles maculipennis</i>	7,0–7,8	Do 150 mg/l	Wiele
<i>Aedes cataphylla</i>	6,4–7,5	Do 300 mg/l	Jedno (Rzadko 2)
<i>Aedes communis</i>	4,1–6,9	Do 280 mg/l	Jedno (Rzadko 2)
<i>Aedes punctor</i>	4,1–7,6	Do 300 mg/l	Wiele
<i>Aedes cantans</i>	4,1–7,6	Do 300 mg/l	Wiele
<i>Aedes cinereus</i>	4,1–7,6	Do 260 mg/l	Wiele
<i>Aedes vexans</i>	6,5–7,8	Do 300 mg/l	Wiele
<i>Aedes sticticus</i>	6,8–7,5	Do 170 mg/l	Wiele

W piśmiennictwie opisano również przypadki *erythema chronicum migrans* po ukłuciu komara. Ponieważ komary nie są uważane za wektory boreliozy, przypadki te można powiązać z mechanicznym przeniesieniem krętków *B. burgdorferi* (22).

Podczas normalnych warunków zagrożenie zarażeniem w wyniku mechanicznego przeniesienia patogenu na człowieka nie jest wysokie, ale może wzrastać w warunkach masowego występowania komarów.

Na szczególną uwagę zasługują więc duże skupiska ludności, w których jednocześnie komary z gatunków będących potencjalnymi wektorami mogą występować w liczebnościach plagowych. Wegner (23) zanalizowała występowanie komarów w kilku dużych miastach Polski: Szczecinie, Świnoujściu, Gdańsku, Warszawie. Fauna komarów liczyła w nich odpowiednio od 19 (Gdańsk) do 30 (Szczecin) gatunków. Osiem gatunków będących potencjalnymi wektorami występowało w 4 badanych aglomeracjach. Jednocześnie autorka stwierdziła, że postępująca urbanizacja środowiska ogranicza różnorodność fauny komarów, ale w jej składzie zwiększa się odsetek gatunków o cechach wektorów: na terenach podmiejskich wynosił on 35%, w parkach miejskich – 50%, a w centrum – 75%.

Przytoczone dane wskazują na to, że w Polsce i w krajach ościennych istnieją naturalne ogniska arbowirusów. W faunie komarów naszego kraju obecne są też gatunki znane z doniesień jako wektory. Występują one także w faunie miast. W warunkach polskich należałoby je więc traktować jako potencjalne zagrożenie tam, gdzie mogą występować w ilościach plagowych, zwłaszcza w pobliżu dużych skupisk ludzkich. Oprócz tego, w wielu miejscowościach turystycznych występowanie komarów w masowych ilościach może stanowić zagrożenie zdrowotne dla turystów oraz wpływać na obniżenie atrakcyjności miejscowości i w konsekwencji powodować wymierne straty ekonomiczne dla lokalnej społeczności (24). Istnieje więc potrzeba opracowania strategii zwalczania komarów w Polsce dla wybranych regionów – tam, gdzie może być potencjalne zagrożenie zdrowotne, lub, gdzie występowanie komarów w ilościach plagowych powoduje obniżenie wpływów z turystyki. Programy takie, tworzone dla konkretnych lokalizacji geograficznych, powinny się składać z kilku komponentów:

- określenia składu fauny komarów na danym obszarze,
- mapowania miejsc rozwoju larw komarów,
- opracowania programu zwalczania larw w miejscach rozwoju; jeżeli to możliwe – zmian w środowisku zmniejszających liczbę miejsc rozwoju larw, np. likwidacja małych zbiorników wodnych wokół zabudowań,
- opracowanie strategii zwalczania imago,
- opracowanie systemu informacji dla mieszkańców,
- opracowanie systemu szkoleń dla osób, które zajmowałyby się profesjonalnie zwalczaniem komarów.

Takie kompleksowe programy zwalczania komarów były realizowane w Polsce na obszarach zagrożonych malarią, głównie na wybrzeżu gdańskim i w Szczecińskim. Od czasu zlikwidowania ognisk malarii zwalczanie komarów w Polsce przeprowadza się chemicznymi adultycydami, na niektórych tylko obszarach.

W chwili obecnej nie można stwierdzić, że dla jakiegokolwiek terenu Polski, gdzie komary mogą stanowić problem zdrowotny lub ekonomiczny, został opracowany plan działań zmierzających do ograniczenia ich liczebności. O potrzebie takiej świadczyły

natomiast podejmowane często doraźne (niestety, nie zawsze skuteczne) działania w czasie występowania pląg komarów na dużych obszarach: w 1997 i 2000r.

PIŚMIENNICTWO

1. Gubler DJ. Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. *Emerg Infect Dis* 1998; 4: 442-50.
2. Alten B i in. A new project on malaria and cutaneous leishmaniasis control trial using pyrethroid impregnated bed nets in southeast Anatolia region, Turkey. *Proc.13th Eur SOVE Meet 2000*; 166-170.
3. Jeljaszewicz J. Editorial emerging, re-emerging and drug-resistant infections: a global threat. *Zentralbl Bakteriol* 1999; 289: 1-7.
4. Moore CG. *Aedes albopictus* in the United States: current status and prospects for the further spread. *J Am Mosq Control Assoc* 1999; 15: 221-27.
5. Knudsen A, Romi R, Majori G. Occurrence and spread in Italy of *Aedes albopictus* with implications for its introduction into other parts of Europe. *J Am Mosq Control Assoc* 1996; 12: 177-83.
6. Schaffner F. Program for the surveillance and control of *Aedes albopictus* in metropolitan France. *Proc. 13th Eur SOVE Meet 2000*; 78-79.
7. Wróblewska-Mularczykowa Z i in. Przegląd serologiczny zdrowej ludności Polski w kierunku arbowirusów zapalenia mózgu w latach 1965 - 1967. *Przeegl Epidemiol* 1968; 22: 501-13.
8. Wróblewska-Mularczykowa Z. Studies on the properties of strains of Arbo A Eastern Equine Encephalomyelitis (EEE) type isolated in Poland. *Exp Med. Microb XVIII* 1966; 2: 142-7.
9. Wróblewska-Mularczykowa Z, Żabicka J, Nawrocka E, Olkowska D, Taytsch-Kapulkin F. Occurrence of arbovirus antibodies in foresters in Poland in 1971 - 1972. *Acta Microbiol Pol* 1973; 5: 123-30.
10. Juricova Z, Pinowski J, Literak I, Hahm KH, Romanowski J. Antibodies to alphavirus, flavivirus and bunyavirus arboviruses in house sparrows (*Passer domesticus*) and tree sparrows (*P. montanus*) in Poland. *Avian Dis* 1998; 42: 182-5.
11. Espmark A, Niklasson B. Ocklebo disease in Sweden: epidemiological, clinical, and virological data from the 1982 outbreak. *Am J Trop Med Hyg* 1984; 33: 1203-11.
12. Hubalek Z, Halouzka J. West Nile fever - a reemerging mosquito - borne viral disease in Europe. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 594-5.
13. Karabatsos N. International Catalogue of Arboviruses including Certain Other Viruses of Vertebrates. 1985; San Antonio: American Society of Tropical of Tropical Medicine and Hygiene.
14. Lvov DK i in. Isolation of two strains of West Nile Virus during an outbreak in Southern Russia. *Emerg Infect Dis* 2000; 4: 373-6.
15. Kubica-Biernat B. Distribution of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Poland. *Eur Mosq Bull* 1999; 5: 1-17.
16. Wegner E, Gliniewicz A. Most abundant mosquito species (Diptera: Culicidae) in Poland and methods of their control. *Acta Par Portuguesa* 1998; 5: 30.
17. Moore CG i in. Guidelines for arbovirus surveillance programs in the United States. CDC, 1993.
18. Wegner E. Czynniki warunkujące efektywność komarów (Diptera, Culicidae) jako przenosicieli chorób. *Mat. Sympozjum „Stawonogi pasożytnicze i alergogenne”*, Kazimierz, 2000: 115-24.
19. Żółtowski Z i in. Preliminary investigations on the role of mosquitoes in the transmission of tick-borne encephalitis virus. *Proc Symp Biology of viruses of the tick-borne encephalitis complex*. 1961: 410-13.

20. Przesmycki F i in. Investigation of natural focus of encephalitis in the Puszcza Białowieńska National Park. *J Infect Dis* 1960; 106: 276–83.
21. Taytsch Z, Wróblewska Z. Investigation of natural focus of encephalitis in Puszcza Białowieńska forest. *Przegl Epidemiol* 1958; 4: 339.
22. Hard S. Erythema chronicum migrans (Afzelii) associated with mosquito bite. *Acta Derm-Venereol* 1966; 46: 473–6.
23. Wegner E. Występowanie komarów (Diptera, Culicidae) – ważnych wektorów chorób ludzi – w wybranych miastach Polski. *Mat. Sympozjum „Stawonogi pasożytnicze i alergogenne”*, Kazimierz, 2000: 65–71.
24. Kubica-Biernat i in. Development of the mosquito integrated biological control (IBC) program in the Vistula-Spit (Mierzeja Wiślana) region, northern Poland. *Proc. 13th Eur. SOVE Meet* 2000; 217.

Adres autorki:

Aleksandra Gliniewicz

Zakład Zwalczania Skażeń Biologicznych Państwowego Zakład Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

BORELIOZA U ZWIERZĄT

Zakład Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach

Borrelia burgdorferi, krętek z rodziny *Spirochaetaceae*, odpowiedzialny jest za występowanie boreliozy (choroby z Lyme) – choroby przewlekłej, wielonarządowej, występującej u ludzi i zwierząt. Jest on przenoszony przez kleszcze z rodzaju *Ixodes*, chociaż badania Halouzka i wsp. wskazują że wektorem biologicznym mogą być również komary (12). Jak dotąd w sposób jednoznaczny nie ustalono, czy możliwa jest transmisja krętka z zakażonych zwierząt na człowieka i odwrotnie. Na szczególną uwagę zasługuje pies – zwierzę towarzyszące człowiekowi – jako potencjalne źródło zakażenia.

Borelioza swym zasięgiem obejmuje niemal wszystkie kraje Europy i Azji, a także Stany Zjednoczone. Rezerwuarem krętków są małe gryzonie oraz króliki, niektóre duże ssaki, a także ptaki przenoszące krętka nawet na znaczne odległości.

Najbardziej charakterystycznym objawem choroby z Lyme u ludzi jest rumień wędrujący oraz towarzyszące mu bóle głowy, karku, mięśni, gorączka i nudności. Dalszemu rozwojowi choroby towarzyszą objawy ze strony układu nerwowego (limfocytarne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, porażenie nerwu twarzonego), układu krążenia (blok przedsionkowo-komorowy, zapalenie mięśnia sercowego), przewlekłe stany zapalne stawów oraz chroniczne zanikowe zapalenie skóry (31).

Najwięcej przypadków zachorowań na boreliozę zarówno u ludzi, jak i psów stwierdzono w USA. Chorobę z Lyme u psów opisano po raz pierwszy siedem lat po jej stwierdzeniu u ludzi (18). Od połowy lat osiemdziesiątych boreliozę diagnozowano także u koni, bydła i kotów. Na podstawie danych epizootologicznych ocenia się, że obecnie w USA przypadki choroby u zwierząt są 6 do 10 razy częstsze od liczby przypadków boreliozy u ludzi (36). Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że od 1982 r. w USA boreliozę potwierdzono u ponad 95 000 osób (8).

Borelioza u zwierząt nie jest jeszcze dobrze poznana. W 1987 r. opisano chorobę z Lyme u konia, u którego wystąpiły objawy kliniczne wskazujące na zapalenie mózgu: ruchy manieżowe, nadmierne pocenie się, wytrzeszcz oczu i trudności w polykaniu. Z mózgu padłego zwierzęcia wyizolowano krętka, a miano przeciwciał swoistych dla *B. burgdorferi* określone testem ELISA było równe 2 048. U koni choroba może objawiać się także stanami zapalnymi stawów nadgarstkowych, przewlekłą kulawizną, zmętnieniem oraz wrzodziejącym zapaleniem rogówki (4).

U krów zakażonych *B. burgdorferi* najczęściej występującymi objawami klinicznymi są gorączka, kulawizna a także ronienia (5).

Zakażenia *B. burgdorferi* stwierdzono także u owiec i kotów, po ich ekspozycji na kleszcze *Ixodes ricinus* (24, 35).

Z badań prowadzonych na psach wynika, że większość przypadków boreliozy przebiega w postaci podklinicznej. Najczęściej występującymi objawami u tego gatunku zwierząt są: podwyższenie ciepłoty wewnętrznej ciała, brak apetytu, bolesność i powiększenie węzłów chłonnych, a także stan zapalny stawów. Obserwowano również przypadki stanów zapalnych w obrębie nerek i pęcherza moczowego oraz blok sercowy (11, 16, 17).

W Europie boreliozę u psów potwierdzono w Belgii, Niemczech, Austrii, Włoszech, Hiszpanii i Bułgarii.

Wstępne krajowe badania serologiczne nad występowaniem przeciwciał dla *B. burgdorferi* u psów służbowych (owczarków niemieckich) pochodzących z leśnych garnizonów, były prowadzone w latach 1993–1996 jedynie w Wojskowym Instytucie Higieny i Epidemiologii w Puławach (3). Od 1999 roku w Zakładzie Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach prowadzone są badania m.in. z użyciem techniki PCR, potwierdzające występowanie licznych zachorowań wśród psów – zwierząt towarzyszących człowiekowi (21,22). Opracowano parametry reakcji PCR i Nested PCR do detekcji materiału genetycznego *B. burgdorferi*. Startery do amplifikacji zaprojektowano w oparciu o dostępną w bazie danych EMBL sekwencję genu kodującego flagelinę. Umożliwiają one amplifikację fragmentu o długości 437 pz w PCR oraz 144 pz w N-PCR. Do badań użyto pełną krew, surowice i osad krwinek pobrane przyżyciowo od 2 psów zakażonych doświadczalnie szczepem referencyjnym *B. burgdorferi*, oznaczonym 236/2, a także homogenizaty narządów wewnętrznych, błony maziowe stawów, tkankę mięśniową, tłuszczową oraz moczu pobrane w czasie badania anatomopatologicznego, wykonanego 15 tygodni po zakażeniu. Równocześnie próby te posiewano na podłoże płynne BSK-H (Sigma) stosowane powszechnie do namnażania krętka. Obecność krętka potwierdzano badaniem w mikroskopie ciemnego pola oraz dodatkowo testem PCR i N-PCR.

Próby izolacji krętka w płynie BSH-H wykazały jego obecność tylko w hodowli pełnej krwi psa zakażonego doświadczalnie, pobranej w 3, 4 dniu oraz 7, 8 i 15 tygodni po zakażeniu doświadczalnym, w surowicy pobranej w 7 dniu oraz 4, 5, 7 i 13 tygodniu po zakażeniu oraz w osadzie krwinek pobranych 15 tygodni po zakażeniu. U drugiego psa zakażonego doświadczalnie wynik dodatni uzyskano w przypadku hodowli pełnej krwi pobranej 3 dni i 15 tygodni po zakażeniu, w surowicy pobranej 11 tygodni po zakażeniu oraz w osadzie krwinek pobranych 15 tygodni po zakażeniu. Zastosowanie reakcji PCR i N-PCR pozwoliło na stwierdzenie obecności krętka w osadzie krwinek czerwonych obydwu psów już 7 dni po zakażeniu. Od 6 do 15 tygodnia po zakażeniu *B. burgdorferi* był obecny również w surowicy i pełnej krwi zwierząt (Tabela I).

W wyniku reakcji PCR obecność produktu amplifikacji o długości 437 pz wykazano w grasicy, wątrobie, śledzionie, żołądku, jelicie grubym, worku osierdziowym, mięśniu sercowym, skórze, tkance tłuszczowej, błonie maziowej stawu skokowego, kolanowego, łokciowego i barkowego, tkance mięśniowej i moczu psów zakażonych doświadczalnie. W reakcji N-PCR obecność krętka stwierdzono także w grasicy i macicy drugiego psa (Tabela II).

Tabela I. Wyniki N-PCR z prób krwi izolowanych od psów zakażonych *Borrelia burgdorferi*

Data pobrania krwi	Pies 1			Pies 2			Pies 3		
	Pk	S	O	Pk	S	O	Pk	S	O
14.06.99	-	-	-	-	-	-			
17.06.99									
18.06.99									
21.06.99					+				+
30.06.99					+				+
5.07.99			+	+	+	+	+	+	+
12.07.99	nb	nb			+			+	+
19.07.99	nb	nb			+			+	+
26.07.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
2.08.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
9.08.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
16.08.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
23.08.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
31.08.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
7.09.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
13.09.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
20.09.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+
27.09.99	nb	nb	+	+	+	+	+	+	+

Badaniami serologicznymi z zastosowaniem komercyjnego testu immunoenzymatycznego Canine *B. burgdorferi* Antibody Test Kit, produkcji IDEXX, USA wykazano u zakażonych psów obecność przeciwciał swoistych dla *Borrelia burgdorferi* o niskim mianie, między 4-tym a 14 dniem po infekcji.

Zastosowanie reakcji PCR do badania 49 surowic pochodzących od psów z objawami klinicznymi kulawizn wykazało obecność fragmentu o długości 437 pz w 4 próbach, zaś testem N-PCR obecność produktu amplifikacji o długości 144 pz stwierdzono w kolejnych 2 surowicach.

Natomiast badanie serologiczne testem immunoenzymatycznym Canine *B. burgdorferi* Antibody Test Kit wykazało obecność swoistych przeciwciał w 12 z 49 surowic (25%), z czego w 8 surowicach stwierdzono przeciwciała o wysokim mianie.

Wyniki przeprowadzonych badań serologicznych wskazują na występowanie boreliozy u psów utrzymywanych jako zwierzęta do towarzystwa. Opracowane parametry reakcji PCR i N-PCR oraz wyniki zastosowania reakcji amplifikacji do detekcji krętka we krwi i narządach wewnętrznych psów potwierdzają czułość i swoistość testów, w porównaniu do hodowli krętka w płynie BSK-H. Zarówno test PCR, jak i N-PCR może być stosowany jako rutynowa metoda nie tylko do diagnozowania zakażeń krętkiem *B. burgdorferi*, ale również monitorowania rozwoju zakażenia u psów.

Tabela II. Wyniki PCR i N-PCR z prób tkanek i narządów psów

Próba	Pies 2		Pies 3	
	PCR	N-PCR	PCR	N-PCR
grasica	+	+		+
wątroba	+	+	+	+
śledziona	+	+	+	+
żołądek	+	+		
jelito cienkie				
jelito grube			+	+
dwunastnica	nie badano		+	+
nerka				
pęcherz moczowy				
osierdzie	+	+		+
serce	+	+	+	+
płuca			nie badano	
macica		+		+
przepona				
skóra	+	+		
tkanka tłuszczowa	+	+		
staw skokowy	+	+	nie badano	
staw kolanowy	+	+	+	+
staw łokciowy	+	+	+	+
staw barkowy	+	+	+	+
maź stawu barkowego	+	+	nie badano	
tkanka mięśniowa	+	+	+	+
mocz	+	+	+	+

Od wielu lat uwaga wielu ośrodków badawczych w świecie koncentruje się na badaniach genetycznych krętka oraz ustaleniu patogeny choroby. *B. burgdorferi* jest jednym z zaledwie kilku drobnoustrojów, dla których określono sekwencję nukleotydową DNA całego genomu (10).

Wszystkie krętki *B. burgdorferi* wywołujące chorobę z Lyme zostały określone wspólnym mianem *B. burgdorferi* sensu lato. Badania z zastosowaniem technik biologii molekularnej (m.in. hybrydyzacje DNA/DNA, sekwencjonowanie 16S rDNA, rybotypowanie, RFLP, PFGE), pozwoliły na wyróżnienie w obrębie *B. burgdorferi* genogatków: *B. burgdorferi* sensu stricto (ss), *B. garinii*, *B. afzelii* (2, 6). Ponadto, w Europie opisano genogatunki *B. valaisiana* (grupa VS116) i *B. lusitaniae* (15, 38), w USA *B. bissettii* i *B. andersonii* (20, 30), natomiast w Japonii zidentyfikowano niepatogenny krętek *B. japonica* (13, 28). Zauważono geograficzną zależność występowania genogatków *B. burgdorferi*, np. *B. garinii* i *B. afzelii* są najbardziej rozpowszechnione w Eurazji, natomiast nie są one stwierdzane w Ameryce, podczas gdy krętek *B. burg-*

borferi sensu stricto występuje w Ameryce i Europie, zaś nie jest izolowany w Azji. Duża zmienność obserwowana wśród krętków *B. burgdorferi* determinuje różnorodność objawów klinicznych boreliozy. Zapalenie stawów związane z chorobą z Lyme jest związane z zakażeniem *B. burgdorferi* sensu stricto, podczas gdy infekcja *B. garinii* najczęściej wywołuje neuroboreliozę. Zakażenie *B. afzelii* jest silnie powiązane z wczesnymi i późnymi objawami dermatologicznymi, takimi jak przewlekłe zapalenie skóry kończyn (1, 14, 26).

Do metod genetycznych wykorzystywanych do charakterystyki krętka zaliczyć można analizę profili plazmidowych, polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) w połączeniu z hybrydyzacją Southerna z zastosowaniem kilku rodzajów sond molekularnych, hybrydyzacją DNA-DNA, badanie profilu dużych fragmentów restrykcyjnych w elektroforezie zmiennego pola (PFGE) oraz metody oparte o reakcję łańcuchową polimerazy (PCR) i sekwencjonowanie DNA. Spośród metod wykorzystujących reakcję PCR, w badaniach nad systematyką bakterii najczęściej stosowane są: amplifikacja (i sekwencjonowanie) genu kodującego 16S RNA, amplifikacja oraz sekwencjonowanie lub analiza restrykcyjna regionu międzygenowego 16S-23S rRNA, a także reakcje RAPD lub AP-PCR (7). Metody genetyczne, zwłaszcza wykorzystujące reakcję PCR, ze względu na bardzo wysoką czułość i krótki czas wykonania, znajdują coraz szersze zastosowanie w diagnostyce i różnicowaniu szczepów *B. burgdorferi* (9, 15, 19, 25, 26, 27, 29, 32, 33, 34, 37, 38, 39).

Badania nad określeniem zmienności genetycznej krętka *B. burgdorferi* przeprowadzono w krajach sąsiadujących z Polską: Niemczech, Republice Czech, Estonii, Litwie, Białorusi i Ukrainie. Podobnego typu prace wykonano również w odniesieniu do krętków izolowanych w Mołdawii i Kirgizji (29).

Wstępne badania nad charakterystyką genetyczną krajowych izolatów krętka *B. burgdorferi* z wykorzystaniem techniki PCR przeprowadzono w 2000 r. w Zakładzie Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach (23). Do amplifikacji wykorzystano startery umożliwiające powielenie regionu międzygenowego *rrf(5S)-rrl(23S)* *B. burgdorferi* sensu lato. Wyniki amplifikacji DNA krajowych izolatów *B. burgdorferi* sensu lato izolowanych od psów i z kleszczy oraz szczepów referencyjnych przedstawiono w Tabeli III.

Startery specyficzne dla regionu międzygenowego 5S-23S umożliwiły powielenie fragmentów DNA o wielkości ok. 250 pz dla szczepów *B. burgdorferi* sensu stricto (szczepy B31 i N-40 – 252 pz, szczep 297 – 250 pz); 254 pz dla *B. garinii* (szczep 20047); 258 dla *B. afzelii* (VS 461); 230 pz dla *B. japonica* (HO 14); 258 pz dla *B. valaisiana* (VS 116) i 251 pz dla *B. lusitaniae* (POTI B2).

Wielkości amplikonów polskich izolatów krętka *B. burgdorferi* wynosiły: 250 pz dla szczepu KL44; 251 pz dla szczepów 236/2, KL1, KL43; 258 pz dla izolatu KL5; 247 pz dla szczepu KL4; 261 pz dla szczepu KL3 i 248 pz dla KL93. W przypadku powielania fragmentów DNA krętków wyizolowanych od psów uzyskano amplikony o wielkościach 262 pz – dla P4 i P6 oraz 267 pz dla P3.

Drzewo filogenetyczne szczepów *B. burgdorferi* (Ryc. 1) skonstruowano na podstawie wielkości uzyskanych amplikonów używając programu BIO 1D (Vilber Lourmat Biotechnology, France). Na jego podstawie stwierdzono, że dwa izolaty krajowe – 236/2 i KL43 należą do genogatunku *B. lusitaniae*; szczep K15 – *B. afzelii*; izolaty KL44, K193

i KL1 – *B. burgdorferi* sensu stricto. Szczepy KL3 i KL4 mogą reprezentować oddzielną genogrupę *B. burgdorferi*. Szczepy izolowane od psów – P3, P4 i P6 tworzą oddzielną linię filogenetyczną.

Rycina 1.

Dostępne obecnie metody diagnozowania boreliozy, pomimo ich znaczącej liczby, są ograniczone – szczególnie w odniesieniu do badań serologicznych. Nadal nie są one wystandaryzowane – stosowane w świecie testy są przygotowywane niejednolicie, w oparciu o różne genogatunki krętka. Wydaje się, że PCR, charakteryzujący się swoistością i wysoką czułością spełnia wymagania nowoczesnej diagnostyki.

Lekami stosowanymi z wyboru w leczeniu choroby z Lyme, zarówno u ludzi, jak i zwierząt są antybiotyki. Badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* dowodzą, że najbardziej skuteczne są: tetracykliny, ampicylina, ceftriakson i imipenem. Mniejszą skuteczność wykazują: penicylina i chloramfenikol.

Podjęta terapia antybiotykowa powoduje ustąpienie objawów chorobowych pod warunkiem, że diagnoza kliniczna choroby została potwierdzona badaniami laboratoryjnymi.

PIŚMIENNICTWO

1. Assous MV, Postic D, Paul G, Nénot P, Baranton G. Western blot analysis of sera from Lyme borreliosis patients according to the genomic species of the *Borrelia* strains used as antigens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 12(4): 261-8.
2. Baranton G, Postic D, Saint Girons I, Boerlin P, Piffaretti JC, Assouss M, Grimont PAD. Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* sp. nov. and group VS461 associated with Lyme borreliosis. *Int J System Bacteriol* 1992; 42: 378-83.
3. Bartoszcze M, Palec S, Mizak Z, Knap J, Piątkowski A. Badania nad występowaniem przeciwciał dla *Borrelia burgdorferi* u psów służbowych. *Mat. IX Konf. Nauk. „Diagnostyka mikrobiologiczna”*, Puławy, 1993, t. 30, p. 32.
4. Browning A, Carter SD, Barnes A, May C, Bennett D. Lameness associated with *Borrelia burgdorferi* infection in the horse. *Vet Rec* 1993; 132: 610-1.
5. Burgess EC, Gendron-Fitzpatrick A, Wright WO. Arthritis and systemic disease caused by *Borrelia burgdorferi* infection in a cow. *J AmVet Med. Assoc* 1987; 191: 1468-70.
6. Canica MM, Nato F, du Merle L, Mazie JC, Baranton G, Postic D. Monoclonal antibodies for identification of *Borrelia afzelii* sp. nov. associated with late cutaneous manifestations of Lyme borreliosis. *Scand J Infect Dis* 1993; 25(4): 441-8.
7. Damiani P, Amedeo P, Bandi C, Fani R, Bellizzi D, Sgaramella V. Bacteria identification by PCR-based techniques. In: Adolph KW. *Microbial genome methods*. CRC Press, 1996, 167-78.
8. Dennis TD. Epidemiology, ecology and prevention of Lyme disease. In: Rahn DW, Evans J, red. *Lyme disease*. Am. Coll Phys. 1998, 73-4.
9. Foretz M, Postic D, Baranton G. Phylogenetic analysis of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto by arbitrarily primed PCR and pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47(1): 11-8.
10. Fraser CM, Casjens S, Huang WM, Sutton GG, Clayton R, Lathigra R, i in. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature* 1997; 390 (6660): 580-6.
11. Grauer GF, Burgess FC, Cooley AJ. Renal lesions associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a dog. *J AmVet Med Assoc* 1988; 193: 237-9.

12. Halouzka J, Postic D, Hubálek Z. Isolation of the spirochaete *Borrelia afzelii* from the mosquito *Aedes vexans* in the Czech Republic. *Med Vet Entomol* 1998; 12(1):103 5.
13. Kawabata H, Masuzawa T, Yanagihara Y. Genomic analysis of *Borrelia japonica* sp. nov. isolated from *Ixodes ovatus* in Japan. *Microbiol. Immunol* 1993; 37: 843 8.
14. Lebech AM, Hansen K, Wilske B, Theisen M. Taxonomic classification of 29 *Borrelia burgdorferi* strains isolated from patients with Lyme borreliosis: a comparison of five different phenotypic and genotypic typing schemes. *Med Microbiol Immunol (Berl)* 1994; 183(6): 325 41.
15. Le Fleche A, Postic D, Girardet K, Peter O, Baranton G. Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *Int J Syst Bacteriol* 1997; 47(4): 921 5.
16. Levy SA, Duray PH. Complete heart block in a dog seropositive for *Borrelia burgdorferi*. Similarity to human Lyme carditis. *J Vet Intern Med* 1988; 2: 138 44.
17. Levy SA, Dombach DM, Barthold SW, Wasmoen TL. Canine Lyme borreliosis. *Comp Cont Educ Pract Vet* 1993; 15: 833 46.
18. Lissman BA, Bosler FM, Camay H. Spirochete-associated arthritis (Lyme disease) in a dog. *J AmVet Med Assoc* 1984; 185: 219 20.
19. Marconi RT, Garon CF. Phylogenetic analysis of the genus *Borrelia*: a comparison of North American and European isolates of *Borrelia burgdorferi*. *J Bacteriol* 1992; 174(1): 241 4.
20. Marconi RT, Liveris D, Schwartz I. Identification of novel insertion elements, restriction fragment length polymorphism patterns, and discontinuous 23S rRNA in Lyme disease spirochetes: phylogenetic analyses of rRNA genes and their intergenic spacers in *Borrelia japonica* sp. nov. and genomic group 21038 (*Borrelia andersonii* sp. nov.) isolates. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2427 34.
21. Mizak B, Król J, Mizak Z. Development of PCR and N-PCR for detection of *Borrelia burgdorferi* in dogs. *Bull Vet Inst Pulawy* 2000a; 44, 17 2 6.
22. Mizak B, Król J, Rzeżutka A. Application of PCR and N-PCR for detection of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs. *Bull Vet Inst Pulawy* 2000b; 44, 27 37.
23. Mizak B, Król J. Analysis of Polish isolates of *Borrelia burgdorferi* by amplification of rrf(5S0-rrl)(23S) intergenic spacer. *Bull Vet Inst Pulawy* 2000c; 44: 147 54.
24. Ogden NH, Carter SD, Nuttall PA. Evidence for the transmission of the Lyme disease to sheep in Cumbria. *Vet Rec* 1994; 135: 383.
25. Pahl A, Kühlbrandt U, Brune K, Röllinghoff M, Gessner A. Quantitative detection of *Borrelia burgdorferi* by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 1999; 37(6):1958 63 .
26. Picken RN, Strle F, Picken MM, Ruzic-Sabljić E, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cimperman J. Identification of three species of *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. burgdorferi* sensu stricto, *B. garinii*, and *B. afzelii*) among isolates from acrodermatitis chronica atrophicans lesions. *J Invest Dermatol* 1998; 110(3): 211 4.
27. Picken RN, Strle F, Ruzic-Sabljić E, Maraspin V, Lotric-Furlan S, Cimperman J, i in. Molecular subtyping of *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolates from five patients with solitary lymphocytoma. *J Invest Dermatol* 1997; 108(1): 92 7 .
28. Postic D, Belfaiza J, Isogai E, Saint Girons I, Grimont PAD, Baranton G. A new genomic species in *Borrelia burgdorferi* sensu lato isolated from Japanese ticks. *Res Microbiol* 1993; 144: 467 73.
29. Postic D, Korenberg E, Gorelova N, Kovalevski YV, Bellenger E, Baranton G. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Russia and neighbouring countries: high incidence of mixed isolates. *Res Microbiol* 1997; 148(8): 691 702 .
30. Postic D, Marti Ras N, Lane RS, Henderson M, Baranton G. Expanded diversity among Californian *Borrelia* isolates and description of *Borrelia bissettii* sp. nov. (formerly *Borrelia* group DN 127). *J. Clin. Microbiol* 1998; 36: 3497 50 4.

31. Rahn DW. Natural history of Lyme disease. In: Rahn DW, Evans J, red. Lyme disease. Am Coll Phys.1998; 35 4 8.
32. Ralph D, Postic D, Baranton G, Pretzman C, McClelland M. Species of *Borrelia* distinguished by restriction site polymorphisms in 16S rRNA genes. FEMS Microbiol Lett 1993; 111 (2 3): 239 43.
33. Rijpkema SG, Molkenboer MJ, Schouls LM, Jongejan F, Schellekens JF. Simultaneous detection and genotyping of three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Dutch *Ixodes ricinus* ticks by characterization of the amplified intergenic spacer region between 5S and 23S rRNA genes. J Clin Microbiol 1995; 33(12): 3091 5.
34. Saint Girons I, Gern L, Gray JS, Guy EC, Korenberg E, Nuttall PA, i in. Identification of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in Europe. Zentralbl Bakteriell 1998; 287: 190 5.
35. Sandra L, Bushmich MS. Lyme borreliosis in domestic animals. Journal of Spirochetal and Tick-borne Diseases 1994, 1, 24.
36. Schollenberger A. Borelioza psów i możliwości profilaktyki swoistej tej choroby. Probl Hig 1997; 54: 22 6 .
37. Stünzner D, Hubalek Z, Halouzka J, Postic D, Pierer K, Marth E. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* s. I. in *Ixodes ricinus* ticks from Styria (Austria) and species identification by PCR-RFLP analysis. Zentralbl Bakteriell 1998; 288(4): 471 8.
38. Wang G, van Dam AP, Le Fleche A, Postic D, Peter O, Baranton G, i in. Genetic and phenotypic analysis of *Borrelia valaisiana* sp. nov. (*Borrelia* genomic groups VS116 and M19). Int J Syst Bacteriol 1997; 47(4): 926 32.
39. Welsh J, Pretzman C, Postic D, Saint Girons I, Baranton G, McClelland M. Genomic fingerprinting by arbitrarily primed polymerase chain reaction resolves *Borrelia burgdorferi* into three distinct phyletic groups. Int J Syst Bacteriol 1992; 42(3): 370 7.

Adres autorki:

Beata Mizak

Zakład Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych

Państwowego Instytutu Weterynaryjnego

Al. Partyzantów 57, 24 1 00 Puławy

1. [Illegible text]

2. [Illegible text]

3. [Illegible text]

4. [Illegible text]

5. [Illegible text]

6. [Illegible text]

7. [Illegible text]

8. [Illegible text]

9. [Illegible text]

10. [Illegible text]

11. [Illegible text]

12. [Illegible text]

13. [Illegible text]

14. [Illegible text]

15. [Illegible text]

16. [Illegible text]

17. [Illegible text]

18. [Illegible text]

19. [Illegible text]

20. [Illegible text]

21. [Illegible text]

22. [Illegible text]

23. [Illegible text]

24. [Illegible text]

25. [Illegible text]

26. [Illegible text]

27. [Illegible text]

28. [Illegible text]

29. [Illegible text]

30. [Illegible text]

31. [Illegible text]

32. [Illegible text]

33. [Illegible text]

34. [Illegible text]

35. [Illegible text]

36. [Illegible text]

37. [Illegible text]

38. [Illegible text]

39. [Illegible text]

40. [Illegible text]

41. [Illegible text]

42. [Illegible text]

43. [Illegible text]

44. [Illegible text]

45. [Illegible text]

46. [Illegible text]

47. [Illegible text]

48. [Illegible text]

49. [Illegible text]

50. [Illegible text]

JERZY MIERZEJEWSKI¹, DAVID R. FRANZ², RUSS ZAJTCHUK³

RODZAJE PATOGENÓW, KTÓRE MOGĄ BYĆ UŻYTE W ATAKU BIOTERRORYSTYCZNYM

¹ Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii, Puławy

² Chemical and Biological Defense Division Southern Research Institute,
Frederick Maryland, USA

³ Center for Advanced Technology and International Health,
Rush-Prezbiterian-St. Luke's Medical Center, Chicago, Illinois, USA

W ataku bioterrorystycznym mogą być użyte patogeny badane przez konstruktorów broni biologicznej w okresie zimnej wojny. Jednakże współczesny bioterrorysta będzie chętnie sięgał po najbardziej dostępne czynniki takie jak np. toksoinfekcji pokarmowych i toksyn biologicznych. Te czynniki są atrakcyjne też ze względu na bezpieczeństwo manipulowania nimi. Ważny też będzie efekt psychologiczny ataku bioterrorystycznego, szczególnie w społeczeństwie nie przygotowanym.

WSTĘP

Od czasu zimnej wojny i nuklearnego wyścigu zbrojeń nie było tak wielkiego zainteresowania zagrożeniem bronią masowego rażenia (bmr), którego swoistą odmianą jest terroryzm, w tym i terroryzm biologiczny, jaki w ostatnich latach przejawia opinia publiczna na Zachodzie, a zwłaszcza w USA.

Ten nawrót zainteresowań pojawił się przy końcu lat osiemdziesiątych, by osiągnąć apogeum po Wojnie w Zatoce i po tym, jak w kwietniu 1992 r. prezydent B. Jelcyn poinformował, że Związek Radziecki kontynuował ofensywny program badań nad bronią biologiczną (bb) przez ponad 20 lat po podpisaniu konwencji o jej zakazie. W tamtym czasie wywiad USA wiedział dosyć dużo o radzieckim programie nuklearnym i miał częściowe rozeznanie w radzieckim programie chemicznym, ale miał nikłą wiedzę o największym w historii ludzkości i najbardziej śmiertelnym programie bb. Radziecki dysydent płk dr Ken Alibek, który przez lata był jednym z organizatorów tego programu, poinformował m.in., że ponad 60 tysięcy specjalistów było zaangażowanych w badania, testowanie i produkcję bb, a w 1990 r. było tyle instytutów w Związku Radzieckim pracujących nad zarazkiem dżumy w celu użycia jej jako broni ilu było naukowców w armii USA pracujących nad medycznym przeciwdziałaniem tej chorobie. Przynajmniej dwa z czynników radzieckiego arsenału bb: pałeczka dżumy i wirus ospy były nie tylko produkowane, ale i umieszczane w międzykontynentalnych pociskach balistycznych nacelowanych na USA (1).

Wykrycie programów badań, konstruowania i produkcji bb jest wyjątkowo trudnym zadaniem wywiadowczym ze względu na legalną produkcję szczepionek i rolniczych specyfików ochronnych, których surowce mogą być użyte do produkcji czynników bb.

Badania podstawowe mogą być prowadzone w sposób zakamuflowany w laboratoriach akademickich, przemysłowych lub zdrowia publicznego. Bardziej trudna do ukrycia może być faza uzbrajania tj. umieszczania w środki przenoszenia i testowanie polowe bb, chociaż Irak skutecznie testował urządzenia do rozsiewania aerozolu bakteryjnego. Wprawdzie Irakijczycy mieli wyprodukowane i testowane w terenie takie czynniki biologiczne, jak *Bacillus anthracis*, toksyna botulinowa typu A i aflatoksyna, to jednak z perspektywy czasu można ten program nazwać jedynie wyższego szczebla bioterroryzmem w porównaniu z ogromnym programem radzieckim. Na przykład, całkowita pojemność fermentorów bakteryjnych i wirusowych bioreaktorów w Iraku wynosiła w przybliżeniu 77 000 litrów, podczas gdy standardowy fermentor bakteryjny – jakich setki było zainstalowanych do realizacji radzieckiego programu bb – miał pojemność w przybliżeniu 64 000 litrów. W ten sposób, prawie cały zapas irackiej bb mógł być umieszczony wewnątrz jednego standardowego fermentora (4).

Wkrótce po Pustynnej Burzy w 1991 r. nastąpił upadek Związku Radzieckiego. Tysiące naukowców i inżynierów, poświęciwszy swoje życie produkcyjne do tworzenia bb, nagle pozostało bez pracy (3). Nadrzędnym zagadnieniem stało się więc, żeby ci eksperci od bb nie mogli sprzedać swojego doświadczenia krajom mniej rozwiniętym – w tym niektórym bogatym w ropę – które poszukują sposobów uzyskania równowagi strategicznej dla konwencjonalnej potęgi wojskowej USA. Gdy prezydent Jelcyn przyznał, że Związek Radziecki (a nawet i Rosja do 1992 r.) ignorował konwencję o zakazie bb, USA podjęły starania zmierzające do zmniejszenia prawdopodobieństwa kontynuowania produkcji bb przez Rosjan. M.in. zawarto porozumienie trójstronne, podpisane we wrześniu 1992 r. przez USA, Anglię i Rosję. Zezwalało ono USA i Anglii na wysyłanie zespołów do wizytowania rosyjskich niewojskowych obiektów mogących mieć związek z bb a rosyjskim zespołom do wizytowania niewojskowych zakładów w USA i w Anglii. Zespoły z USA i Anglii wizytowały obiekty rosyjskiego przedsiębiorstwa Biopreparat a rosyjski zespół wizytował 1 obiekt farmaceutyczny w Anglii, 2 obiekty farmaceutyczne i 1 laboratorium rolnicze w USA. Rządy USA i Anglii podjęły następnie inicjatywę szerokiego otwarcia swoich byłych ofensywnych programów bb, jednak Rosjanie bądź odrzucali tego rodzaju podejście bądź odmawiali dostępu do swoich programów. Po miesiącach negocjacji i dyskusji o wizytach w obiektach wojskowych, mimo ogólnych uzgodnień, negocjacje przerwano. Cały proces został zniweczony na skutek braku zaufania po obu stronach.

PATOGENY BADANE JAKO CZYNNIKI BB W OKRESIE ZIMNEJ WOJNY

W czasach zimnej wojny bb konstruowały takie państwa jak Japonia, Związek Radziecki i Demokratyczna Republika Niemiec oraz USA, Anglia i Kanada. Z tysięcy bakterii, wirusów i toksyn biologicznych występujących w naturze, konstruktorzy wyselekcjonowali mniej niż 20 przydatnych do zbrojeń a ich zestawy były prawie jednakowe w programach badań różnych państw (istnieje dowód, że iracka lista czynników bb była opracowana na podstawie wcześniejszych prac innych autorów).

Ten zestaw podstawowych czynników obejmuje: *B. anthracis*, pałeczki z rodzaju *Brucella*, *Yersinia pestis*, *Coxsiella burnetti*, wirus ospy, wirusy zapalenia mózgu, wirusy gorączek krwotocznych oraz toksyna botulinowa i enterotoksyna gronkowcowa B.

Bacillus anthracis

Laseczki wąglika w zakażonym osobniku objawiają swoje działanie w formie wegetatywnej a spory jedynie wtedy, gdy są ekspozowane na powietrze. Spory są bardzo odporne i w pewnych warunkach mogą przeżywać w środowisku przez dziesięciolecia. Zwierzęta ulegają zakażeniu po spożyciu spor na skażonym terenie pastwiska lub jedząc skażoną paszę. Ludzie mogą zakażać się przez wnikanie spor do zmian skórnych w czasie kontaktu z zakażonymi zwierzętami lub produktami zwierzęcymi, przez spożycie zakażonego mięsa od chorych zwierząt lub przez wdychanie zarodników. Wąglik u człowieka jest związany z rolnictwem lub przemysłową ekspozycją na zakażone mięso, skóry, kości lub trupy zwierząt. W USA liczba przypadków ludzkiego wąglika we wszystkich formach zmniejszyła się z ponad 100 przypadków rocznie na początku XX wieku do około 1 przypadku rocznie w minionych 10 latach. Podobny spadek liczby zachorowań na wąglik obserwuje się w krajach europejskich, w tym i w Polsce. USA w czasie realizacji ofensywnego programu bb, podobnie jak Irak, ZSRR i wszyscy inni realizujący takie programy, oceniali laseczkę wąglika jako pierwszorzędną bb. Największy ostatni wybuch epidemii wąglika miał miejsce w 1979 r. (6) po awarii w radzieckim obiekcie bb w Świerdłowsku. Uznaje się, że przynajmniej 66 osób zmarło i wiele zwierząt padło w wyniku nieumyślnego uwolnienia suchych przetrwalników wąglika. Ustalona aerozolowa dawka infekcyjna dla człowieka oparta na badaniach na naczelnym wynosi od 8 000 do 50 000 przetrwalników.

Pałeczki z rodzaju *Brucella*

Pałeczki z rodzaju *Brucella* wywołują u zwierząt typową nieplodność i ronienia. Chociaż poszczególne gatunki *Brucella* mają powiązanie z określonymi gospodarzami zwierzęcymi, mogą wywoływać też zachorowania zwierząt innych gatunków (3). Przypadki zachorowań ludzi występują po kontakcie z zakażonymi zwierzętami lub produktami zwierzęcymi. Szereg gatunkowy bruceli w zależności od ciężkości choroby wywoływanej u człowieka jest następujący: *B. melitensis*, *B. susis*, *B. abortus*, *B. canis*. Naturalne zachorowania występują pospolicie u lekarzy weterynarii, pasterzy owiec, bydła i pracowników rzeźni. Przenoszenie choroby z człowieka na człowieka naturalnie nie występuje, chociaż zakażenia laboratoryjne są pospolite. Brucele są bardzo infekcyjne w aerozolu a ustalona infekcyjna dawka aerozolowa wynosi zaledwie 10 do 100 bakterii. USA przygotowały *B. susis* jako bb w swoim byłym programie ofensywnym. Czynniki ten w latach 40-tych był produkowany, umieszczany w środkach przenoszenia i testowany w próbach terenowych. Program *Brucella* został zakończony w 1967 r. na 2 lata przed jednostronnym wstrzymaniem programu bb.

Francisella tularensis

Jest dosyć stabilna i żywotna przez tygodnie w wodzie, glebie lub trupach zakażonych zwierząt a przez lata w zamrożonym mięsie króliczym. Dawka zakaźna dla człowieka wynosi 10 do 50 bakterii wdychanych lub wprowadzanych śródskórnym. USA przygotowały *F. tularensis* jako bb w swoim programie zakończonym w 1969 r.

Yersinia pestis

Czynnik etiologiczny dżumy *Yersinia pestis* była sprawcą wielkich epidemii na przestrzeni historii. Forma dymieniczna dżumy rozwija się u człowieka w wyniku przeniesienia zarazka od szczura *Rattus rattus* przez pchłę *Xenopsylla cheopsis*. Przenoszenie dżumy na człowieka zachodzi też na drodze kropelkowej z powietrzem wydychanym przez chore zwierzęta lub ludzi i wtedy rozwija się forma płucna dżumy. *Y. pestis* utrzymuje się w naturze w nielicznych rezerwuarach gryzoni w stałym cyklu enzootycznym gryzoń-pchła. *Y. pestis* jako broń została opracowana przez Japończyków i użyta przeciw Chińczykom w czasie II wojny światowej. Podobnie broń dżumową opracował Związek Radziecki a USA badały *Y. pestis* jako potencjalny czynnik bb w latach 60-tych. Przyjmuje się, że 100–500 bakterii wchłanianych z powietrzem stanowi dawkę infekcyjną.

Coxiella burnetti

Wywołuje gorączkę Q. Jest bezwzględny wewnątrzkomórkowy drobnoustrojem o niskiej wirulencji i wysokiej infekcyjności. Dawka infekcyjna *C. burnetti* na drodze inhalacyjnej wydaje się wynosić zaledwie 1 do 10 bakterii. Sporopodobne formy, które mogą wytrzymać ciepło i wysuszenie przez tygodnie i wysoka infekcyjność sprawiały, że była selekcjonowaną przez konstruktorów bb. Wysuszona bakteria może utrzymywać się na obiektach nieożywionych, może być przenoszona na odległości kilometrowe przez wiatr. Ludzie mogą więc być zarażeni bez bezpośredniego kontaktu z chorymi zwierzętami. *C. burnetti* była badana w celach zbrojeniowych w USA przed 1969 r.

Wirus ospy

Chociaż inne czynniki biologiczne, opracowywane dla celów zbrojeniowych w przeszłości, są letalne i stabilne, tylko ospa jest prócz tego wyjątkowo zakaźna w aerozolu, co czyni ją zagrożeniem dla eksponowanych osób i dla każdego z kim eksponowani osobnicy mogą wejść w kontakt. Wiriony wirusa ospy są jedynymi z największych i mogą pozostawać przez długi czas poza gospodarzem.

Przyjęta dawka zakaźna wydaje się być mała, prawdopodobnie od 10 do 100 cząsteczek wirusa. Ortopoxvirus ospy małej stwierdzany w Afryce, ściśle spokrewniony z wirusem ospy, powoduje chorobę prawie nie rozróżnialną od ospy prawdziwej, zarówno klinicznie jak i przez jej letalność dla ludzi. Na szczęście, przenoszenie ospy małej z człowieka na człowieka nie zachodzi tak skutecznie jak to jest w ospie prawdziwej.

Wirusy zapalenia mózgu

Wirusy są względnie stabilne w czasie namnażania i magazynowania. Wirus wenezuelskiego końskiego zapalenia mózgu (VEE) był prawdopodobnie wyselekcjonowany przez pierwszych konstruktorów bb, ponieważ jest łatwy w produkcji, cechuje się wysoką infekcyjnością i zdolnością do wywoływania objawów choroby zasadniczo w 100% przypadkach zakażeń. VEE utrzymuje się w naturze w cyklu gryzoń-komar. Dawka infekcyjna tej rodziny wirusów jest uznawana za 10 do 100 cząsteczek.

Wirusy gorączek krwotocznych

Wirusy *Arenaviridae* (Lassa, Junin, Machupo, Guanarito i Sabia), *Bunyaviridae* (wirusy gorączki Doliny Rift, gorączki krwotoczna Congo-Croman oraz hantawirusy), Filowirusy (Marburg i Ebola) i *Flaviviridae* (żółta febra i Dengue) są czynnikami powodującymi gorączki krwotoczne (VHF). Naturalnie są przenoszone na ludzi z rezerwuarów zwierzęcych lub wektorów owadzych. Niektóre z tych wirusów mogą stwarzać zagrożenia katastroficzne doprowadzające nawet do zmniejszenia zaatakowanej populacji na skutek szerzenia się wyniszczających epidemii. Odsetek śmiertelności gorączek krwotocznych wynosi od 5% do 20%, jednakże *Filoviridae* mogą powodować śmiertelność sięgającą do 90%. Większość tych wirusów jest wysoce zakaźna aerozowo (dawka infekcyjna 1–10 cząsteczek) i może namnażać się do wysokich mian w hodowlach komórkowych. Z tego względu wszystkie mogą być kwalifikowane jako czynniki bb. Żaden z wirusów VHF nie był uwzględniany w dawnym ofensywnym programie USA, natomiast *Filoviride* były testowane jako bb przez Związek Radziecki i były doniesienia prasowe, że japońska sekta Najwyższa Prawda próbowała zdobyć hodowlę wirusa Ebola podczas epidemii w Zairze w 1995 r.

Toksyna botulinowa

Toksyna botulinowa jest białkiem o ciężarze molekularnym w przybliżeniu 150 000 daltonów, wytwarzana przez beztlenowe bakterie *Clostridium botulinum*. Istnieje 7 immunologicznie różnych toksyn, które są wytwarzane przez różne szczepy bakteryjne. Wszystkie serotypy wykazują podobny mechanizmem działania i wywołują podobne objawy chorobowe. Dawka toksyczna najpowszechniej badanego serotypu A wynosi tylko 0,001 mg/kg ciała. Rząd Iraku oficjalnie przyznał się, że prowadził badania nad opracowaniem ofensywnej broni botulinowej przed Wojną w Zatoce. Później okazało się, że napełniał rakiety i pociski artyleryjskie toksyną botulinową. USA i ZSRR badały tę rodzinę toksyn w czasie realizacji swoich programów ofensywnych, ale toksyna botulinowa nigdy nie była uważana za idealny czynnik bb, prawdopodobnie ze względu na jej niestałość w środowisku i względnie niską skuteczność.

Enterotoksyna gronkowcowa B

Enterotoksyna gronkowcowa B (SEB) jest termostabilną i pospolicie wywołuje zatrucia pokarmowe u ludzi, gdy wytworzy się w nieodpowiednio przetrzymywanej i następnie spożywanej żywności. Była przygotowana jako broń i testowana w USA w latach realizacji programu ofensywnego. Wyjątkowa moc i stabilność SEB oraz małe dawki wywołujące porażenie i śmiertelność kwalifikują jako na czynnik obeszczadniający. Potwierdzono jej stabilność i skuteczność w testach polowych. Inne gronkowcowe enterotoksyny mogą też być użyteczne jako czynnik bb.

PATOGENY WSPÓŁCZESNEGO BIOTERRORYZMU

Ponieważ czynniki biologiczne, w odróżnieniu od czynników chemicznych, nie są ani lotne ani aktywne dermatologicznie, przy stosowaniu na dużą skalę muszą być uwalniane w postaci aerozolu, o wielkości cząsteczek do 6 mm zdolnych do przenikania do pęcherzyków płucnych. Proces technologiczny od bakteryjnego skosu lub próbówki

z hodowlą komórkową do niewidzialnego aerozolu cząsteczek nie jest banalnym przedsięwzięciem. Chociaż niektórzy eksperci nie zgadzają się, dr Frantz (jeden z autorów tego artykułu) jest przekonany, że do osiągnięcia takiego skutecznego wyczynu, terrorysta będzie musiał być wspomagany przez sponsoring państwowy przynajmniej tak rozwiniętego kraju jak Irak i musi mieć do dyspozycji jeden z zestawów czynników wyselekcjonowanych przez konstruktorów bb z okresu zimnej wojny.

Jednak obecnie celem operacji terrorysty nie muszą być tysiące czy nawet setki zgonów a nawet zachorowań. Podczas gdy realizatorzy programów w latach zimnej wojny prawdopodobnie byli przekonani, że wyprodukowana przez nich bb będzie wykorzystana do atakowania tysięcy oddziałów wojskowych dla wywołania strategicznej odmiany w globalnej konfrontacji, obecnie terroryści potrzebują tylko dawać znać o sobie i utwierdzać w przekonaniu opinię publiczną, że wykonali skutecznie jakiś swój zamiar. Być może wystarczające będzie rozsianie czynnika nie powodującego masowych ofiar tak, jak to uczyniła wspólnota Rajneesa w The Dalles, Oregon, w 1984 r.⁵. Wówczas to zachorowało 751 osób, które jadły sałatkę w miejscowych restauracjach skażoną pałeczką *Salmonella typhimurium*. Taki atak może być przeprowadzony przez jednego niewyrafinowanego mikrobiologa przy wydatku mniejszym niż 100-dolarów. Interesujące jest, że atak wspólnoty Rajneesa był początkowo oceniany jako naturalne zatrucie pokarmowe i upłynął ponad 1 rok zanim zebrano dane o powiązaniu wspólnoty Rejneesa z tym zatruciem pokarmowym. Gdyby takie same zatrucie wystąpiło dzisiaj, prawdopodobnie służby śledcze byłyby włączone do dochodzenia w ciągu 24 godzin.

Tak więc sałatka skażona salmonelą w barze sałatkowym, gdzie indziej grzybek *Cryptosporium* wprowadzony do publicznego ujęcia wody, lub linia produkcyjna mięsa skażona pałeczką *E. coli* – tego rodzaju akty bioterrorystyczne mogą nie uśmiercać 100 lub nawet 10 osób, ale mogą powodować czasowe zachorowania wielu osób i niewymierną dezorientację społeczną. I jeśli taki akt terroru zostanie nagłośniony lub anon-sowany w prasie po zgłoszeniu się pierwszych pacjentów do pogotowia, tego rodzaju jego efekty będą prawdopodobnie bardzo dobrze służyły zamierzeniom terrorystów. Terrorysta z podstawową wiedzą mikrobiologiczną może przeprowadzić taki atak, natomiast system zdrowia publicznego może z trudem opanować chaos i likwidować jego skutki.

Częściej niż czynniki replikacyjne (bakterie lub wirusy) mogą być stosowane przez terrorystów toksyny biologiczne, gdyż są mniej niebezpieczne w manipulowaniu. Z setek toksyn biologicznych występujących w naturze, tylko bardzo mała liczba może być przydatna dla terrorysty. Przy większym ataku bioterrorystycznym, np. do pokrycia 100 km² terenu toksycznym obłokiem, równym dawce 0,025 mg/kg zaatakowanej ofiary, będzie potrzebna masa około 80 kg toksyny. Eksponowani osobnicy otrzymają wtedy dawkę w przybliżeniu 50 LD₅₀. Te toksyny mogłyby prawdopodobnie być użyte jako środki terrorystyczne przez bardzo kompetentną organizację.

Najważniejszym znanym materiałem biologicznym są wymienione już toksyny białkowe produkowane przez bakterie. Są one ogólnie bardziej trudne do produkcji na dużą skalę niż np. toksyny roślinne, ale są wiele razy bardziej toksyczne.

Liczne toksyny, wytwarzane przez organizmy morskie lub przez bakterie, które żyją w organizmach morskich, mogłyby być użyte, jednak trudności w produkcji bądź brak

wystarczającej toksyczności ogranicza prawdopodobieństwo ich użycia przez terrorystów.

Mikotoksyny trichocetenowe wytwarzane przez różne gatunki grzybów były sprawcami niewyjaśnionych początkowo przypadków żółtego deszczu w Azji Płd. Wschodniej na początku lat osiemdziesiątych. Sugerowano wówczas, że mikotoksyna T-2 może być groźna jako czynnik bb⁴⁴, jednak sugestie te okazały się jednym z fałszywych alarmów (7). T-2 jest jedną z bardziej stabilnych toksyn, zachowuje swoją aktywność nawet przy podgrzewaniu do wysokiej temperatury, jest dermatologicznie aktywna, może powodować zmiany skórne i schorzenia systemowe nie będąc nawet wchłanianą lub absorbowaną przez system oddechowy. Najbardziej prawdopodobnymi drogami intoksykacji terrorystycznej mogą być ekspozycja skórna lub spożycie żywności skażonej. Ilości nanogramowe na cm² skóry powodują podrażnienie a ilości mikrogramowe powodują nekrozę. Jeśli ekspozycja jest oko dawki mikrogramowej mogą wywoływać nieodwracalne uszkodzenia rogówki. Moc aerozolu nawet najbardziej toksycznych przedstawicieli tej grupy jest mała (w przybliżeniu 80 ton na 100 km² terenu) i czyni tego rodzaju zagrożenie inhalacyjne mało prawdopodobnym.

Toksyny pochodzące z roślin są ogólnie łatwe do produkcji na dużą skalę przy minimalnych kosztach w warunkach niskiej technologii. Z tego względu, są one bardziej prawdopodobne do zastosowania przez terrorystów. Taką toksyną jest rycyna. Atrakcyjność rycyny jest prawdopodobnie związana z powszechną dostępnością. Bułgarski dysydent Georgij Markow został zamordowany przez domięśniową iniekcję rycyny, której dawkę określono na 500 mg. Doświadczalne LD₅₀ różni się znacznie w zależności od drogi podania i wrażliwości gatunkowej. U myszy LD₅₀ wynosi 3 do 5 mg/kg na drodze inhalacyjnej 5mg/kg przy dożylniej iniekcji, 22 mg/kg przy iniekcji dootrzewnowej, 24 mg/kg przy iniekcji podskórnej i 20 mg/kg przy podaniu dożołądkowym.

Czynnikiem, który stwarza ponownie problem bb i nowe możliwości dla bioterroryzmu, jest też ogromny postęp w biotechnologii. Dostępne już dzisiaj osiągnięcia Rosjanie wykorzystali do stworzenia antybiotykoopornych szczepów bakteryjnych (1). Eksperci do spraw zostali zaskoczeni, kiedy w 1997 r. naukowcy z byłych radzieckich laboratoriów bb ogłosili wyniki badań o przeniesieniu genu cereolizyny A i B z *Bacillus cereus* do wirulentnego szczepu *Bacillus anthracis*. W rezultacie uzyskali "modulację właściwości immunopatogennych *B. anthracis* wywołanych przez ekspresję genów cereolizyny A i B (8). Rosjanie podali, że ich własna żywa szczepionka wąglikowa (STJ-1) nie stanowi skutecznej ochrony przeciw temu nowemu szczepowi bakterii. Ten nowy szczep ma zachowaną wyjątkową stabilność i wywołuje syndrom chorobowy niepodobny do wywoływanego przez *B. anthracis*. Jedynie jego fizyczne cechy jako czynnika broni pozostają te same.

FAŁSZYWE ALARMY

Obecnie społeczeństwa są nadal marginalnie informowane o terroryzmie, ale wystarczająco wystraszone tym co czyta się, słyszy i ogląda w telewizji. Z tego względu każdy akt terroru, fałszywy alarm a nawet żart, może odnosić znaczący skutek i spełniać cele terrorystyczne.

Falszywe alarmy czynione są zazwyczaj dla zmylenia czujności sił porządkowych lub dla żartów. Mogą też odnosić skutki daleko większe od rzeczywiście przeprowadzanych aktów terroryzmu. Najbardziej znany żart biologiczny w USA miał miejsce w 1997 r., w Waszyngtonie DC, kiedy grupa zwana „the Counter Holocaust Lobbyists of Hillel” pozostawiła wilgotną torbę papierową, która zawierała płytkę Petriego z napisem „Anthrax” i „Yesinia pestis”. Ten incydent miał miejsce w tym czasie, gdy dopiero zaczęto podejmować szkolenie publiczne o terroryzmie biologicznym. Podjęto wówczas działania energiczne. Badano próby terenowe nawet za pomocą analizy chromatograficznej, odkażano ludzi na ulicy, zarządzono kwarantannę pracowników w budynkach urzędowych i podjęto kontrolę sąsiadujących bloków mieszkalnych. W czasie tych działań znalezioną płytkę Petriego przesłano do miejscowego laboratorium urzędowego, gdzie wkrótce stwierdzono brak tych dwóch groźnych czynników w znalezionej płytce. Retrospektywnie możemy stwierdzić, że władze w Waszyngtonie zareagowały zbyt nerwowo na wilgotną torbę papierową zawierającą płytkę Petriego z nieposianą pożywką. Terroryści zwyciężyli tego dnia. Jednakże, zasięg i sposób reagowania nie powinny być krytykowane. Policja, straż ogniowa i paramedycy przeprowadzili godne pochwały, chociaż bardzo konserwatywne działania, według dostępnej dla nich wiedzy. Jak różnie oni mogliby zareagować, gdyby wiedzieli, że *B. anthracis* i *Y. pestis* nie są ani naskórnie aktywne ani lotne. Te zarazki, gdyby były obecne, nie mogły „wyskoczyć” z rozmokłego worka papierowego i razić każdego napotkanego. Stąd wniosek, że szkolenie jest najlepszą bronią nawet przeciw tego rodzaju żartom.

PODSUMOWANIE

Wiele czynników omawianych wyżej są klasycznymi czynnikami biologicznymi z okresu zimnej wojny. Terroryści będą zmuszani do 1) uzyskania hodowli tych czynników, 2) namnażania ich w odpowiednich ilościach, 3) przygotowania ich jako broni i 4) rozsiewania w formie niezbędnej do wywołania licznych zachorowań bez narażenia się na zakażenia bądź zatrucia samych siebie.

Ze względu na kompleksowość i niebezpieczny charakter pracy, jest prawdopodobne, że terroryści mogą dobierać i inne czynniki i sięgać po metody odrzucone przez konstruktorów w przeszłości. Z tego względu spectrum czynników terrorystycznych, chociaż nie koniecznie bardziej letalnych, może być znacznie szersze. Do zabicia tysięcy ofiar terrorysta będzie musiał sięgać do klasycznych czynników a do przygotowania ich jako broni sięgać do sponsoringu jakiegoś państwa. Z tych racji obecnie atak na masową skalę jest mniej prawdopodobny. Historia ostatnich lat uczy, że ataki na małą skalę, fałszywe alarmy i żarty mogą być najbardziej prawdopodobnymi zdarzeniami. Prawie każdy, kto ma elementarną wiedzę z mikrobiologii może namnażać wystarczająco czynniki biologiczne i skażać żywność lub wodę, by wywołać przypadki zachorowań wśród ludności. Psychologiczny aspekt ataków może wzmocnić ich siłę uderzeniową a przeciwdziałać temu możemy głównie przez przemyślane szkolenie i przygotowanie profesjonalne służb ratowniczych i służby zdrowia..

PIŚMIENNICTWO

1. Alibek K. Biohazard. New York: Random House; 1999.

2. Carus WS. Bioterrorism and biocrimes: the illicit use of biological agents in the 20th century. Washington (DC): The National Defense University; 1999.
3. Grimont F, Verger JM, Cornelis P, i in. Molecular typing of *Brucella* with cloned DNA probes. *Res Microbiol* 1992; 143: 55 6 5.
4. Franz DR, Zajtchuk R. Understanding the threat, preparation, and medical response. *Disease-a-Month* 2000; 46: 125 92.
5. Ledeburger J, red. Biological weapons: limiting the threat. Cambridge (MA): The MIT Press; 1999.
6. Mierzejewski J. Konsekwencje doświadczeń nad wykorzystaniem *Bacillus anthracis* jako broni biologicznej. *Post Microbiol* 1995; 34: 385 401.
7. Mierzejewski J, Tyszkiewicz W. Żółty deszcz konsekwencje błędnej analizy. *Problemy* 1992; 532: 19 23.
8. Pomenancev AP, Staritsin NA, Mockov Yu V, i in. Expresion of cereolisin AB genes in *Bacillus anthracis* vaccine strain ensures protection against experimental hemolytic anthrax infection. *Vaccine* 1977; 15: 1846 50.
9. Roberts B, red. Terrorism with chemical and biological weapons. Alexandria (VA): The Chemical and Biological Arms Control Institute; 1997.

Adres autora:

Jerzy Mierzejewski

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

Tel/fax: (081) 886 28 22

E-mail: obwwihe@man.pulawy.p

HENRYK ARCIUCH

STALE AKTUALNE ZAGROŻENIE – WĄGLIK

Ośrodek Badań Weterynaryjnych Wojskowego Instytutu Higieny
i Epidemiologii

Wąglík jest chorobą bakteryjną wywoływaną przez zdolną do tworzenia przetrwalników laseczkę Gram-dodatnią *Bacillus anthracis*. Przetrwalniki posiadają dużą opornością na czynniki środowiskowe, a mianowicie: wysokie i niskie temperatury, zróżnicowane pH, wysychanie oraz różnorodne związki chemiczne (w tym środki dezynfekcyjne). Są odporne ponadto na promieniowanie jonizujące oraz inne niekorzystne czynniki fizyczne.

Zasadniczą przyczyną nawracającego pojawiania się tej jednostki chorobowej są trudności z dewastacją zarazka w środowisku bytowania zwierząt wrażliwych i ludzi.

Naturalne zakażenia u ludzi, powstające przez wdychanie przetrwalników laseczek wąglika, powodują wystąpienie najgroźniejszej postaci choroby, manifestującej się gwałtownymi objawami ze strony układu oddechowego oraz niekiedy ze strony OUN – tak zwany wąglík przemysłowy, zwany niegdyś chorobą gałganiarzy lub sortujących wełnę i skóry.

Śmiertelność u ludzi

W zależności od postaci choroby, śmiertelność kształtuje się na poziomie: powyżej 95% – zapalenie opon mózgowych na tle wąglíkowym, 80–90% – wąglík w postaci płucnej, 15–75% – wąglík w postaci jelitowej oraz kilka procent w postaci skórnej kiedy dochodzi do uogólnienia choroby.

Tabela I. Oporność na temperaturę

Postać bakterii	Warunki powstania efektu bakteriobójczego
laseczki	kilkanaście minut ogrzewania w temp. 60°C
przetrwalniki	kilkanaście minut gotowania (100°C), kilkanaście minut ogrzewania na sucho w temp. 110°C
Dla celów praktycznych, jako bezpieczne minimum, należy przyjąć oddziaływanie temperaturą 121°C przez 30 minut (autoklawowanie)	

Wrażliwość na środki dezynfekcyjne

Najbardziej efektywne dla likwidacji endospor pozostają: 8% formaldehyd w absolutnym isopropanolu oraz 75% preparat Chlorox w alkoholu zakwaszonym HCl (8 ml/litr Ż do pH 1,5). W tym przypadku etanol i metanol mogą być stosowane zamien-

Tabela II. Oporność na naświetlanie

Postać bakterii	Warunki powstania efektu bakteriobójczego
Promienie słoneczne	
przetrwalniki	około 100 godzin naświetlania
Promienie jonizujące γ	
laseczki, młoda hodowla 8×10^8	dawka około 1 2,3 kGy (róż. doświadcz.)
przetrwalniki w koncentracji 9×10^8 komórek/ml	dawka około 30 3 6 kGy (róż. doświadcz.)
Dla celów praktycznych, jako bezpieczne minimum, należy przyjąć oddziaływanie dawką 41,5 kGy	

nie. Czas działania tych środków na endospory powinien wynosić około 2 godzin. Ukazało się na rynku w ostatnim czasie kilka komercyjnych preparatów dezynfekcyjnych. Ich skuteczność wobec przetrwalników laseczek wąglika jest obecnie badana. Należy pamiętać o trudnościach w ekstrapolowaniu wyników badań skuteczności dezynfekcyjnej uzyskanych w oparciu o doświadczenia prowadzone na przetrwalnikach innych niż *Bacillus anthracis* gatunków laseczek tlenowych.

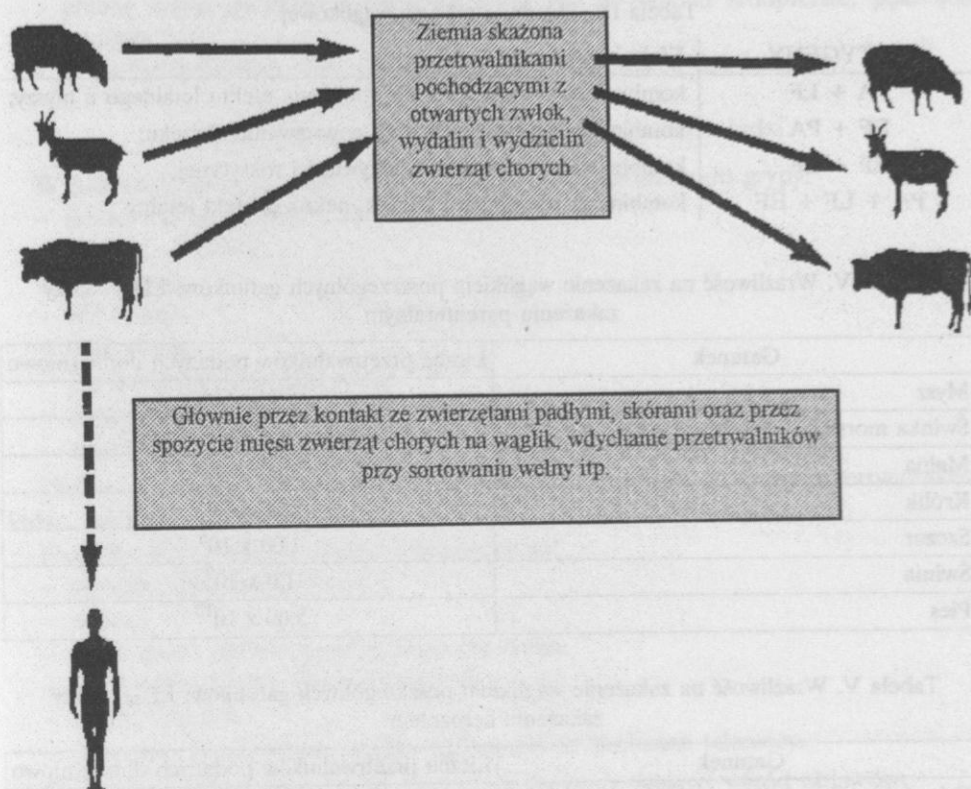
Typowe drogi szerzenia się wąglika

W większości przypadków zarażenie wąglikiem u zwierząt następuje przez pobranie przez wrażliwego żywiciela przetrwalników z pokarmem. W zakażonym osobniku przetrwalniki przekształcają się w formy wegetatywne, które mnożą się i produkują złożoną toksynę, prowadząc ostatecznie do śmierci gospodarza. Z wydobywającymi się z naturalnych otworów ciała krwistymi wyciekami, laseczki wydostają się do środowiska zewnętrznego, gdzie w kontakcie z powietrzem atmosferycznym, szybko przekształcają się w formy przetrwalne. U człowieka najczęstszą bramą wniknięcia zarazka jest uszkodzenie skóry.

Naturalnym rezerwuarem zarazka są zwierzęta chore, w Europie głównie bydło, owce, kozy, konie i świnie. Przy skażeniu gleby i wody znaczącą rolę ma kał. Chore krowy na 1–2 dni przed śmiercią mogą wydalać laseczki wąglika. Stwierdzono, że zarodniki mogą być wydalone z kałem dzikich zwierząt mięsożernych oraz ptaków, przez 3 tygodnie po spożyciu zwłok zwierząt padłych na wąglik. Do zakażenia może dochodzić także w czasie pojenia zwierząt, szczególnie gdy pijąc w okresie suszy zwierzęta pobierają osad (szlam) z dna zbiorników wodnych. W świetle długotrwałego przebywania przetrwalników w środowisku zewnętrznym, poza żywicielem, wydaje się uprawnione stwierdzenie, że równie ważnym rezerwuarem zarazka, jak zwierzęta wrażliwe jest skażona gleba.

Źródłem zakażenia mogą też być mączki mięsno-kostne, wełna, mięso oraz skóry zwierzęce.

W Polsce międzywojennej wąglik u zwierząt był chorobą dosyć pospolitą. Liczba zachorowań dochodziła do 20 000 rocznie. W okresie powojennym największe nasilenie choroby u ludzi notowano w dawnym województwie rzeszowskim oraz lubelskim. Obecnie zachorowania u ludzi występują sporadycznie, pojawiając się zwykle w postaci zmian skórnych. Zachorowania te pozostają zwykle w ścisłym związku z przypadkami



Ryc. 1. Anthrax rozprzestrzenianie się choroby w miejscu jej endemicznego występowania

zachorowań u zwierząt lub z terenami dotkniętymi węglikiem w przeszłości. Dzięki wieloletnim masowym szczepieniom bydła i owiec, wprowadzonym rygorystycznym przepisom sanitarno-weterynaryjnym i skutecznej terapii antybiotykowej, liczebność zachorowań i zgonów u zwierząt, a co za tym idzie stopień narażenia ludzi, została radykalnie zmniejszona.

W jakich miejscach można obecnie spotkać się z chorobą?

Obszary wskazywane aktualnie jako tereny wysokiego ryzyka to południowa oraz centralna Ameryka, południowa oraz wschodnia Europa, Azja, Afryka, Karaiby, Bliski Wschód oraz pewne obszary Australii. Węglik zwierząt występuje tam w postaci enzootycznej. Sporadyczne przypadki zachorowań notuje się niemal wszędzie. Bywa on powodem nagłych upadków bydła, owiec, kóz, koni oraz niekiedy świń. Na świecie notuje się średnio rocznie kilka tysięcy przypadków tej choroby.

Czynniki warunkujące chorobotwórczość laseczki wąglika:

- 1) Zdolność do wytwarzania otoczki bakteryjnej oraz
- 2) Składniki toksyny wąglikowej (Tabela III).

Wrażliwość na zakażenie poszczególnych gatunków zebrano w tabeli IV i V.

Tabela III. Składniki toksyny węglikowej

ANTYGENY	Efekt biologiczny
PA + LF	kombinacja wystarczająca do powstania efektu letalnego u myszy;
EF + PA	kombinacja odpowiedzialna za powstawanie obrzęku;
EF + LF	kombinacja nie wykazująca aktywności toksycznej;
PA + LF + EF	kombinacja powodująca obrzęk, nekrozę, efekt letalny.

Tabela IV. Wrażliwość na zakażenie węglikiem poszczególnych gatunków; LD₅₀ przy zakażeniu parenteralnym

Gatunek	Liczba przetrwalników podanych domięśniowo
Mysz	5 (10 50)
Świnka morska	< 10
Małpa	3,00 x 10 ³
Królik	5,00 x 10 ³
Szczur	1,00 x 10 ⁶
Świnia	1,0 x 10 ⁹
Pies	5,00 x 10 ¹⁰

Tabela V. Wrażliwość na zakażenie węglikiem poszczególnych gatunków; LD₅₀ przy zakażeniu aerozolem

Gatunek	Liczba przetrwalników podanych domięśniowo
Człowiek	8000 50 000
Mysz	1,45 x 10 ⁴
Świnka morska	1,65 x 10 ⁴
Małpa	5,00 x 10 ⁴
Owca	2,00 x 10 ⁵
Szczur	2,55 x 10 ⁵
Pies	(18 27) x 10 ⁶

U ludzi może dochodzić do zakażenia, także formami wegetatywnymi, w przypadku spożycia mięsa pochodzącego od zwierząt chorych na węglík lub, w drodze mechanicznej transmisji przy ukąszeniach owadów. Zarażenie naturalne u człowieka następuje niemal wyłącznie od zwierząt, w trakcie obróbki zwłok, dając w efekcie postać skórną choroby, lub w związku ze spożyciem mięsa pochodzącego od osobników chorych, dając postać pokarmową.

W rozpoznaniu różnicowym węgliką u ludzi należy brać pod uwagę:

- w postaci skórnej np; czyraczność, różycę, różę, zmiany syfilityczne, nosaciznę, ospę bydłą, ospę owczą,
- w postaci płucnej, ostre objawy oddechowe na innym tle, jak np.: dyfteryt, objawy infekcji Hantawirusem, grypę, mykoplazmozę, legionellozę, kszusiec, dżumę

- płucną także gwałtownie rozwijający się góz w okolicu śródpiersia, pęknięcie tętniaka aorty,
- w postaci jelitowej; ostry przebieg choroby wrzodowej, dur brzuszny.

Objawy kliniczne wąglika w postaci płucnej u ludzi

W pierwszej fazie choroby objawy są nieswoiste, podobne do grypy:

- średni wzrost ciepłoty ciała,
- złe samopoczucie,
- zmęczenie,
- ból mięśni,
- bóle głowy,
- przekrwienie błon śluzowych,
- suchy kaszel,
- zaburzenia w oddychaniu.

Objawy te trwają zwykle kilka dni (24–48 godz.), zależnie od liczby przetrwalników, które znalazły się w płucach.

Faza druga rozwija się nagle i towarzyszą jej:

- wyraźne skrócenie oddechu,
- sinica,
- osłabienie i objawy rozwijającego się szoku,
- skoki temperatury (niska i wysoka),
- obfite pocenie,
- widoczne powiększenie węzłów chłonnych w okolicach tchawicy.

Druga faza zwykle trwa 24–48 godz. i prowadzi do śmierci wśród objawów:

- zapalenia płuc,
- postępujących zaburzeń w układzie pokarmowym,
- czasem występuje zawał w mięśniu sercowym.

„W odróżnieniu od innych bakterii, które „dbają” o to, żeby mogły wykorzystywać zaatakowany organizm możliwie długo, strategia wąglika zakłada jego śmierć.”

Tym barwnym, choć niepoprawnym naukowo stwierdzeniem zaczyna się artykuł w czasopiśmie SCIENCE, zatytułowany „Wąglik – terrorysta.” Można uśmiechem skwitować sugerowaną celowość zachowania się bakterii, nie należy jednak przechodzić bez zastanowienia nad nieukrywany obawami odnoszącymi się do potencjalnego zagrożenia ze strony laseczki wąglika.

Wspomniane cechy przetrwalników wąglikowych oraz obserwowany po zakażeniu przez układ oddechowy, gwałtowny i kończący się najczęściej zejściem śmiertelnym przebieg infekcji, a także istnienie prostych metod uzyskiwania zarazków w drodze sztucznej hodowli, stały się przyczyną najpierw rozważań a następnie badań nad możliwością zastosowania wąglika jako broni biologicznej.

Możliwe jest, przy zastosowaniu aparatury do fermentacji piwa, wyprodukowanie w ciągu 96 godz. około 1 kg laseczek wąglika, uzyskanych wstępnie, np. z próbki zainfekowanej żywności.

O zbrodniczej opłacalności użycia przetrwalników wąglika w formie rozpylonego aerozolu wspominają różne źródła, m.in. opracowanie ONZ – cyt. „Cechuje ją niezwykła

Tabela VI. Pobieranie próbek w celu potwierdzenia rozpoznania

Postać choroby	Dodatkowe okoliczności	Rodzaj pobieranego materiału	Czas i warunki transportu
Postać skórna	etap pęcherzyka	pobrać płyn z nienaruszonego pęcherzyka na jałową wymazówkę (kiedyś zalecano wchłonięcie płynu pęcherzykowego w kostkę cukru)	w temp. pokojowej do 24 godz.
	etap strupa	wprowadzić wymazówkę pod zewnętrzną krawędź strupa i obracając pobrać materiał ze zmiany	w temp. pokojowej do 24 godz.
Postać żołądkowo-jelitowa	Kał	pobrać 5-10 g do czystego, sterylnego, zabezpieczonego przed wyciekami naczynia	w temp. 4°C do 24 godz.
	Krew	pobrać krew zgodnie z przyjętą procedurą w celu rutynowej hodowli materiału z krwi	czas transportu zależny od instrumentarium
Postać płucna	Płwocina	pobrać wykrztuszoną próbkę do jałowego, szczelnego pojemnika	w temp. 4°C do 24 godz.
	Krew	pobrać krew zgodnie z przyjętą procedurą w celu rutynowej hodowli materiału z krwi	czas transportu zależny od instrumentarium

Tabela VII. Minimalna dawka przetrwalnikseczki węglik wywołująca zakażenie drogą aerozolową, na tle innych potencjalnych czynników bronii biologicznej

Czynnik	Transmisja z człowieka na człowieka	Dawka wywołująca zakażenie
Wąglik	Brak	8000 50 000
Bruceleza	Brak	10 100
Cholera	Rzadko spotykana	10 500
Dżuma płucna	Częsta	100 500
Tularemia	Brak	10 50
Gorączka Q	Rzadko spotykana	1 10
Ospa	Częsta	10 100
Wenezuelskie zapalenie mózgu	Sporadyczna	10 100
Wirusowe gorączki krwotoczne	Występuje	1 10
Botulizm	Brak	0,001 µg/kg (LD ₅₀ dla typu A)

skuteczność rażenia – 1 kg zarodników węgla wystarczy do wyeliminowania z życia wielkiej metropolii, jak np. Nowy Jork”.

Należy podkreślić, że nie byłaby to pierwsza w historii ludzkości próba wykorzystania w walce z przeciwnikiem niekonwencjonalnych czynników rażenia, w tym chorób zaraźliwych.

Oto wybrane przykłady:

1. Jednostka 731 – Centrum Doświadczalne Japońskiego Programu Rozwoju Broni Biologicznej (150 budynków, 5 satelitarnych ośrodków, przeszło 3 000 pracowników) działająca w latach 1932 – 1945. Zaatakowano 11 chińskich miast skażając żywność i wodę czystymi kulturami *B. anthracis*, *V. cholerae*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp.* i *Y. pestis*.
Wskutek niedostatecznego zabezpieczenia własnych wojsk, podczas ataku biologicznego na Changtech w 1941 r. zanotowano 10 000 zachorowań (w tym 1 700 przypadków śmiertelnych) wśród żołnierzy japońskich (głównie na cholerę). Rozdawano także, na szczęście z niewielkim negatywnym skutkiem, jeńcom chińskim zwalnianym do domu bułeczki skażone przecinkowcami cholery.
2. Ofensywny Program Biologiczny Armii Amerykańskiej w latach 1943–1969. Intensywne prace nad czynnikami biologicznymi służącymi do skażenia wody i żywności (enterotoksyna gronkowcowa “B”, toksyna botulinowa, laseczka węgla, *Brucella suis*), a także czynników niszczących zbiory roślin.
3. Dawna fabryka broni biologicznej Vector, Kolosowo, Nowosybirsk. Tam najprawdopodobniej przechowywany był nielegalnie wirus ospy. Były również sygnały amerykańskie o prowadzeniu tam prac nad genetycznym zmodyfikowaniem wirusa ospy.
4. Wszystko wskazuje na to, że instalacje w Swierdłowsku, na terenie byłego ZSRR przygotowane były do produkcji na dużą skalę przetrwalników węgla jako broni biologicznej. W 1979 r., w wyniku awarii w tamtejszym ośrodku, laseczki węgla wydostały się do otoczenia. Na 77 osób, u których stwierdzono kontakt z węglem, 66 osób zmarło.
5. W 1995 roku Irak potwierdził, że produkował rakiety, bomby oraz zbiorniki do rozpylania węgla z samolotów.

Nie jest łatwo wyobrazić sobie skutki ataku węglem w czasie, kiedy metrem przemieszcza się jednocześnie dziesiątki tysięcy osób. Pewne jest jednak to, że będzie musiało upłynąć nie mniej jak 48 do 72 godzin, aby nasilająca się liczba zachorowań wśród mieszkańców nasunęła specjalistom podejrzenie ataku bioterrorystycznego. Podczas testów przeprowadzonych w metrze w Nowym Jorku, wprowadzony niechorobotwórczy materiał biologiczny był wykrywany w różnych punktach miasta już w ciągu kilku minut od rozpylenia.

Po 24–48 godzinach choroby stan większości pierwszych pacjentów będzie krytyczny a w ciągu dalszych 24–72 godzin następowaliby zgony. Wśród osób które zachorowały, odsetek przypadków śmiertelnych wyniósłby prawdopodobnie ponad 80%.

Można przewidywać, że informacja o użyciu broni biologicznej nieuchronnie przedostanie się w pewnym momencie (około 24–48 godzin od powzięcia podejrzenia) do wiadomości publicznej i spowoduje bardzo silny efekt psychologiczny w postaci paniki

utrudniającej lub wręcz uniemożliwiającej racjonalną samoorganizację, zmierzającą do ograniczenia skutków ataku.

Dla każdego większego miasta winny być opracowane odpowiednie plany, włącznie z przeciwdziałaniem powstawaniu powszechnej hysterii, załamaniu się systemów pomocy lekarskiej (włączając w to możliwość pojawiania się zachorowań wśród osób udzielających pomocy) i powstawaniu masowych ucieczek z terenów zaatakowanych.

Problemy związane z przeciwdziałaniem oraz opanowaniem klęski biologicznej są niezwykle złożone.

Rozwiązania wymagają, zespolonej wiedzy i wysiłków różnych dyscyplin zawodowych, na różnych poziomach administracyjnych. Można tu wymienić otwartą listę zagadnień, które wydają się pierwszoplanowe. Ich gradacja oraz kompletność jest dyskusyjna i powinna pozostawać przedmiotem stałej troski organów państwa oraz obywateli. A oto one:

1. Znaczenie służb specjalnych jako pierwszej linii ostrzeżenia i obrony w odniesieniu do terroryzmu.
2. Szybkość wykrywania faktu rozsiania przetrwalników laseczek wąglika (atak skryty).
3. Szybkość rozpoznania środka rażenia (jednostki chorobowej). Znajomość zasad pobierania, dokumentowania oraz przesyłania do badań rozpoznawczych próbek materiału klinicznego oraz środowiskowego. Znajomość diagnostyki laboratoryjnej oraz zasad bezpiecznej pracy w laboratoriach na różnych szczeblach specjalizacji.
4. Zagadnienie współpracy międzyresortowej przy organizacji centrów kryzysowych – w tym współpraca pomiędzy służbą zdrowia i organami służby weterynaryjnej.
5. Rola mediów lokalnych w przeciwdziałaniu skutkom stanów kryzysowych.
6. Problem jawności/niejawności planów reagowania.
7. Problem ekspertów, szkolenia specjalistów oraz bazy danych o ludziach i środkach przydatnych do likwidacji skutków kryzysu wywołanego atakiem biologicznym.
8. Stan i mobilność zapasów materiałowych, transportu sanitarnego oraz rozmieszczenie i stopień gotowości obiektów lecznictwa zamkniętego do przyjmowania dużej liczby chorych wymagających szczególnie intensywnej opieki medycznej i terapii.
9. Problem środków ochrony indywidualnej oraz transportu dla grup pierwszego kontaktu z chorymi i podejrzanymi.
10. Postępowanie ograniczające dalsze rozwlekanie choroby w tym skuteczność dostępnych metod dewastacji zarazka.
11. Problem utrzymania ciągłości funkcjonowania infrastruktury miasta, rejonu itd. W przypadku masowej absencji w miejscach pracy.

Postępowanie z porażonymi

Wąglik nie przenosi się z człowieka na człowieka, ma jednak inną groźną właściwość. Osoby ekspozowane na przetrwalniki mogą nagle zachorowywać nawet do 8 tygodni po ekspozycji. Można temu zapobiegać przez podawanie antybiotyków, codziennie przez około 60 dni. Nowsze badania na małpach wykazują, że ochrona wywoływana

przez ciprofloksacynę i doksycyklinę osiąga skuteczność rzędu 90%. Okres ten może być skrócony przez podanie szczepionki. Prace doświadczalne sugerują, że 2 dawki bezkomórkowej szczepionki, podane co 15 dni mogą dać ochronę rozpoczynającą się po 30 dniach od pierwszego zastrzyku. Trzeba jednak wiedzieć, że szansa jej pozyskania od aktualnych producentów jest niewielka, brak także danych, aby ktokolwiek w Polsce podejmował próby jej produkcji. Podobnie, nadal w stadium planowania jest utrzymywanie w magazynach odpowiednich zapasów antybiotyków.

Na terenie USA dopuszczono do stosowania u ludzi szczepionkę przeciwko wąglikowi wolną od komórek bakteryjnych. Jest ona filtrem zabitej hodowli bakteryjnej, czym w istotny sposób różni się od szczepionek żywych. Szczepionka ta przeznaczona jest dla osób kontaktujących się w miejscu pracy z importowanymi skórami, futrami, mączkami mięsno-kostnymi, wełną, włosiem (szczególnie z kóz) oraz szczecią. Przeznaczona jest także dla ludzi zaangażowanych w działalność diagnostyczną oraz badawczą, mogącą prowadzić do ekspozycji na przetrwalniki laseczek wąglika. Szczepionka prezentowana jest jako skuteczna w 93% przeciwko wąglikowi skórnemu. Jest ona opracowana oraz produkowana i dystrybuowana przez BioPort Corporation, Lansing, Michigan.

Wybuchowi choroby wśród zwierząt w okolicach sporadycznego jej występowania towarzyszą zwykle w pierwszym okresie znaczne straty.

Na terenach wolnych od wąglika zwiększone straty przy pierwszych zachorowaniach można wiązać z brakiem doświadczenia lekarzy weterynarii w zakresie rozpoznawania i zwalczania choroby.

Można mieć więc uzasadnione obawy odnośnie stosownej wiedzy i umiejętności wśród lekarzy medycyny oraz pracowników laboratoriów rozpoznawczych stopnia podstawowego, którzy nie zetknęli się dotychczas z przypadkiem wąglika u ludzi.

Ogólna znajomość zagadnienia jak i procedur obowiązujących w przypadku konkretnego zagrożenia wydaje się obecnie bardzo niska.

Sprawy te szeroko omówiono w tłumaczonym na język polski i wydanym nakładem Głównego Inspektora Sanitarnego przewodniku WHO, w sprawie zapobiegania oraz zwalczania wąglika.

Komitet Doradczy do spraw Szczepień (ACIP – Advisory Committee for Immunization Practices) zaleca, szczepionkę przeciwko wąglikowi podawać osobom zawodowo narażonym na stykanie się z wąglikiem, m.in. w pracach diagnostycznych i naukowo-badawczych. Szczepionkę należy podawać jedynie osobom zdrowym w wieku 18 – 65 lat, z uwagi na to, że wyniki badań nad jej stosowaniem odnoszą się jedynie do tej subpopulacji. Nie należy stosować jej także u kobiet ciężarnych, ponieważ brak danych upewniających, że jej stosowanie nie powoduje ujemnych skutków dla płodów.

Ośrodek Badań Medycznych Armii USA przeprowadził na 60 małpach gatunku *Rhesus* test doświadczalnej terapii profilaktycznej po ekspozycji na wąglik drogą inhalacyjną. Leczenie było zapoczątkowane 24 godz. po ekspozycji. Grupa kontrolna nie była leczona.

Tabela VIII. Wyniki testu doświadczalnej terapii profilaktycznej po ekspozycji na węgiel drogą inhalacyjną

Leczenie	Liczba zgonów (N=10)	Śmiertelność w %
Grupa kontrolna	9	90
Grupa szczepiona	8	80
Penicylina	3	30
Ciprofloksacyna	1	10
Doksycyklina	1	10
Doksycyklina + szczepionka	0	0

Tabela IX. Profilaktyka antybiotykowa zalecana dla ludzi w przypadku ekspozycji na węgiel

Lek	Dawkowanie		Alternatywne
	Wskazania terapeutyczne	Wskazania terapeutyczne	
Ciprofloksacyna	400 mg i.v. co 8-12 godz.	500 mg przez 4 tygodnie	ciprofloksacyna, klindamycyna, erytromycyna, chloramfekinol
Doksycyklina	200 mg, potem 100 mg co 12 godzin	100 mg przez 4 tygodnie	
Penicylina	2 mln jedn. i.v. co 2 godz.	Brak (uczulenia)	

Wcześniej podana penicylina, ciprofloksacyna i doksycyklina mogą być skuteczne w leczeniu płucnego węgla, jeżeli leczenie rozpoczęte jest po ekspozycji i przed wystąpieniem pierwszej fazy objawów.

Można przyjąć następujący schemat profilaktyki antybiotykowej, po aerozolowej ekspozycji na przetrwalniki węgla:

Czy i w jakich okolicznościach jest prawdopodobny w Polsce atak aerozolowy przetrwalnikami węgla?

Według autorów amerykańskich uwalnianie czynników broni biologicznej w formie aerozolu może być przeprowadzane kilkoma sposobami: m. in. przez zainstalowanie **samoczynnego urządzenia w systemach ogrzewczych i wentylacyjnych**, w metrach, portach lotniczych oraz w innych miejscach publicznych. Z punktu widzenia koniecznej skrytości jego wykonania, atak taki w innych miejscach wydaje się zbyt trudny do zrealizowania.

Można jednak zakładać, że równie prawdopodobne, jak zamach w metrze, są ewentualne próby skażenia ujęć wody, zakładów produkujących lub magazynujących żywność, restauracji i stołówek, środków transportu żywności, wytwórni leków itp. W takich okolicznościach przebieg choroby (węgiel głównie w postaci żołądkowo-jelitowej) i zakres osób dotkniętych schorzeniem będzie odmienny, zapewne mniej groźny, choć też w wielu przypadkach wystarczająco tragiczny, aby wywołać oczekiwany przez terrorystów efekt psychologiczny.

Każdy terroryzm jest formą wojny psychologicznej stosowaną dla wywołania strachu. W przypadku bioterroryzmu, gdy wiele ludzi będzie widzieć umierających wśród swoich najbliższych, strach ten może być niewyobrażalnie wielki.

Warto przy okazji rozważyć, w jakim stopniu wyrażane publicznie, zapewne w dobrej wierze, opinie stanowią inspirację dla frustratów, zbrodniarzy i szaleńców.

Wśród społeczności odczuwających głębokie frustracje na tle rozwarstwienia ekonomicznego, pozbawienia własnej państwowości, utraty dotychczasowego znaczenia oraz wpływów politycznych itp. rodzą się wszelkie formy sprzeciwu społecznego, z terroryzmem i tendencjami rewolucyjnymi włącznie. Powstaje problem, z jakich konkretnych powodów, w jakiej formie, w jakim miejscu oraz przeciw komu sprzeciw ten zostanie skierowany. W kontekście postawionych pytań należy oceniać niebezpieczeństwo pojawienia się bioterroryzmu w Polsce. Wiele autorytetów skłania się do opinii, że problem ataku bioterrorystycznego jest nieprzewidywalny. Z takich poglądów płyną także istotne wnioski dla praktycznej ochrony zdrowia publicznego.

Adres autora:

Henryk Arciuch

Ośrodek Badań Weterynaryjnych WIHiE

ul. Lubelska 2, 24 100 Puławy

WIESŁAWA PALEC, PIOTR RUSECKI*, MICHAŁ BARTOSZCZE

JAD KIEŁBASIAANY JAKO ŚRODEK BIOTERRORYSTYCZNY

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii
Komendant: płk. prof. dr hab. K. Chomiczewski
* Zarząd Wojskowej Służby Zdrowia
Szef Zarządu: gen. bryg. dr med. A. Trybusz

Omówiono problemy ochrony przed bioterrorystycznym atakiem z użyciem jadu kielbasianego (toksyny botulinowej).

Jad kielbasiany (toksyna botulinowa) jest jedną z najsilniejszych znanych trucizn na świecie. Wytwarzają ją beztlenowe laseczki przetrwalnikujące z rodzaju *Clostridium*. Przynależność gatunkową określa się na podstawie typu wytwarzanej toksyny. Opisano 8 typów serologicznych oznaczonych literami A, B, C1, C2, D, E, F i G, a szczepy *Cl. botulinum* odpowiednimi typami A, B, Ca, Cb, D, E, F i G (1). Jad kielbasiany uwalniany jest do środowiska zewnętrznego (hodowla, żywność, jelita) podczas kiełkowania endospor, rozmnażania form wegetatywnych i lizy komórek botulinowych. Jad kielbasiany jest bezpośrednią przyczyną objawów botulizmu (2, 3). Toksyny typu A, B, E rzadziej F są przyczyną botulizmu u ludzi (99% zachorowań) (4), zaś toksyny typu C i D powodują botulizm zwierząt (5, 6). Nie stwierdzono botulizmu związanego z toksyną G.

Ciężar molekularny oczyszczonej toksyny botulinowej typu A po krystalizacji wynosił 900 000 daltonów. Wykazano, że toksyna botulinowa jest substancją niejednorodną, zawierającą dwie frakcje, z których jedna odznacza się wysoką toksycznością i słabą aktywnością hemaglutynacyjną, a druga, przeciwnie – wysoką aktywnością hemaglutynacyjną i małą toksycznością (7).

Kryształki toksyny typu A w mikroskopie elektronowym przedstawiają układ, gdzie rdzeń neurotoksyczny znajduje się w helikoidzie hemaglutyniny (8). Neurotoksyny związane z nietoksycznymi komponentami w hodowli tworzą większe kompleksy, nazywane protoksynami. Szczepy typu A *Cl. botulinum* produkują 3 różnej wielkości protoksyny o ciężarze molekularnym 900 kDa (19 S), 500 kDa (16 S) i 300 kDa (12 S) (9). W elektroforezie na żelu poliakrylamidowym (SDS – PAGE) wykazano, że zawierają one takie same komponenty białkowe. Frakcjonowana hemaglutynina w obecności 2-merkaptotetanolu rozdziela się na 5 podjednostek o ciężarze molekularnym 52, 35, 20, 19 i 15 kDa. Nietoksyczne komponenty (hemaglutynina i nietoksyczna nie-niehemaglutynina) są bardzo ważne w rozwoju zatruc pokarmowych jadem kielbasianym, ponieważ nie ulegają działaniu soku żołądkowego (10). Protoksyna o większej molekułe tego samego typu podana drogą pokarmową wykazuje większą toksyczność (11).

Komponent toksyczny kompleksów toksyny botulinowej ma charakter neurotoksyny. Neurotoksyny różnych typów *Cl.botulinum* mają podobny ciężar molekularny (ok. 150 000 daltonów). Neurotoksyna syntetyzowana w komórkach występuje hodowli jako pojedynczy łańcuch polipeptydowy, który może być pocięty przez endogenne proteazy w szczepach proteolitycznych – typ A i B – lub może być nacięty przez dodanie proteaz egzogennych w szczepach nieproteolitycznych – typ E (12). Proteolityczne rozszczepianie nie naciętej toksyny botulinowej powoduje aktywację toksyny i formowanie dwułańcuchowej molekuly składającej się z łańcucha ciężkiego (H) o ciężarze molekularnym 100 kDa i lekkiego (L) o ciężarze molekularnym 50 kDa, utrzymywanych przez co najmniej jeden mostek dwusiarczkowy. Redukcja dwułańcuchowej molekuly (mostków) prowadzi do utworzenia wolnych łańcuchów, które oddzielnie są nietoksyczne (12). Równomolarna ich mieszanina prowadzi do odtworzenia struktury natywnej i rewersji toksyczności w granicach 30 – 40 % możliwej dla toksyn A i B (7,13) i 74 % dla toksyny typu C (14). Testem neutralizacji z AB toksyną (szczepu *Cl. botulinum*, produkującego obie toksyny) wykazano, że aktywność neurotoksyny typu B w AB toksynie po trypsynizacji wzrasta 12-krotnie lub więcej, a aktywność toksyny A 2,9-krotnie (15). Maksimum aktywacji toksyny typu B nieproteolitycznego szczepu uzyskiwano przy pH 6 przez 20 minut i przy stosunku trypsyny do toksyny 1:10 (16).

Za pomocą analizy ultrawirowania przy pH 7,5, wykazano obecność dwóch zdysocjonowanych komponent protoksyny typu F toksyny *Cl. botulinum*. Komponenty te pojawiały się bardzo szybko, miały molekuly tej samej wielkości, były bardziej labilne niż protoksyna, szczególnie przy pH poniżej 5. Badania te potwierdziły, że tylko postać protoksyny wywiera efekt toksyczny przy intoksykacji doustnej, gdyż jest oporna na inaktywację przez sok żołądkowy i enzymy trawienne (10).

Toksyny botulinowe wykazują zróżnicowaną budowę antygenową. Neurotoksyny botulinowe są antygenowo różne, oprócz typów C₁ i D, gdzie wykazano obecność wspólnych czynników (17). Szczepy *Cl. botulinum* typu C alfa produkują toksyny typów C₁, C₂ i D z typem C₁ jako dominującym, a szczepy typu D produkują identyczne toksyny z typem D jako dominującym. W ostatnich latach, wprowadzenie nowoczesnych technik badawczych, takich jak: PCR, sekwencjonowanie nukleotydów genów kodujących neurotoksyny itp. wniosło wiele informacji charakteryzujących relacje pomiędzy neurotoksynami różnych typów *Cl. botulinum*.

Za pomocą reakcji PCR wykazano identyczność w sekwencji genów neurotoksyn szczepów nieproteolitycznych i proteolitycznych *Cl.botulinum* wynoszącą 97,7% dla łańcucha lekkiego i 90,2% dla łańcucha ciężkiego. W badaniach struktury genowej *Cl. botulinum* typu AB metodą PCR stwierdzono obecność genu A i B toksyny. Za pomocą próby biologicznej wykazano proporcję typów toksyn A/B, która wyniosła 1:25 (18).

Zdarza się niejednokrotnie, że wykrywane są geny toksyny botulinowej, za pomocą próby PCR, które nie produkują aktywnej toksyny w hodowli czy też w żywności (19)

OPORNOŚĆ TOKSYNY BOTULINOWEJ NA DZIAŁANIE CZYNNIKÓW FIZYKO-CHEMICZNYCH

W powietrzu toksyna botulinowa traci swoją aktywność w ciągu 12 godzin. Promienie słoneczne niszczą ją w ciągu 1–3 godzin. Światło słoneczne bezpośrednio dość szybko unieczynnia toksynę w hodowli, a światło rozproszone działa wolno o czym

świadczy fakt że, nawet po upływie 8 miesięcy w badanych próbkach znajdowano ślady toksyny. Dużą opornością na działanie światła słonecznego odznaczała się toksyna typu E oraz toksyna typu C, która unieczyniała się w bezpośrednim świetle dopiero po miesiącu (5).

W standardowych warunkach skuteczność działania wysokiej temperatury na toksynę botulinową typów A, B i C jest zasadniczo podobna. W temperaturze 90 C i powyżej nie wykrywano tych toksyn po 30 sek. (20 000 DLM/ ml). Oporność toksyny botulinowej na temperaturę zwiększa się w środowisku sacharozy i w produktach żywnościowych.. Gotowanie w ciągu 15 min. unieczynia całkowicie toksynę (20).

Toksyna botulinowa jest wrażliwa na zasadowy odczyn środowiska. Toksyna typu A już w środowisku o pH 7.0 traciła 95% swojej aktywności, a toksyna typu B 50% w czasie 24 godzin. A taka sama ilość toksyny typu B unieczyniała się przy pH 8,0. Bardziej odporne na zasadowe pH są toksyny typu C i D, a szczególnie typ E toksyny, który utrzymywał toksyczość na tym samym poziomie przy pH 8.0 w ciągu 24 godzin (5).

Chlor w dawce stosowanej do odkażania wody pitnej (1–2 mg/l) w czasie 15 minutowej ekspozycji praktycznie okazał się nieskuteczny. Skuteczne natomiast unieczynienie toksyny następowało w stężeniu chloru w dawce 1000 mg/l. Słabymi odkażalnikami toksyn botulinowych są czynniki jod i nadmanganian potasu.

OBJAWY KLINICZNE BOTULIZMU

Botulizm jest chorobą związaną najczęściej ze spożyciem żywności zawierającej toksynę. Opisywano także botulizm przyranny, w następstwie zranienia (21). W ostatnich latach potwierdzono przypadki botulizmu niemowląt (poniżej 1 roku życia), do którego dochodzi wskutek kolonizacji jelit noworodków przez neurotoksyczne szczepy *Cl. Botulinum* (22). Namnażająca się bakteria uwalnia do światła jelita neurotoksynę botulinową, która może spowodować nagłą śmierć noworodka. Okres inkubacji choroby jest raczej rzadko krótszy niż 6 godzin, a początek symptomów może być wydłużony do 12–24 godzin lub nawet dłużej.

Najbardziej charakterystyczne objawy związane są niedowładem lub porażeniem mięśni gładkich oka i przewodu pokarmowego, w mniejszym stopniu mięśni prążkowanych oka, gardła, krtani i mięśni szkieletu. Można wyróżnić dwa zespoły objawów chorobowych: zespół objawów nieswoistych – mdłości, wymioty, wolne stolce, ból brzucha, zawroty głowy, osłabienie, zespół objawów swoistych – zamglone widzenie, podwójne widzenie, szerokie źrenice, brak reakcji źrenic na światło, nierówność źrenic, suchość w jamie ustnej i gardle, opadnięcie powiek, chrypka, bezgłos, ból gardła, uczucie palenia w przełyku lub za mostkiem, niedowład mięśni mimicznych twarzy i trudności przełykania. Obserwuje się wzdęcia brzucha, zaparcie, brak perystaltyki jelit, zatrzymanie moczu i ogólne osłabienie siły mięśniowej (23).

W botulizmie przyrannym, niezależnie od objawów swoistych, stwierdza się podniesioną temperaturę ciała, długi okres wylegania (do 2 tygodni) oraz brak objawów ze strony przewodu pokarmowego.

Zatrucie jadem kielbasianym może niekiedy przebiegać tak łagodnie, że chory bagatelizuje chorobę i nie zgłasza się do lekarza, a może również mieć przebieg

piorunujący zakończony zgonem w ciągu kilkunastu lub kilkudziesięciu godzin. Śmiertelność w Polsce wynosi około 2% zachorowań.

Białko toksyny przenika przez błonę śluzową jelita cienkiego i poprzez układ limfatyczny i układ krwionośny dociera do połączeń neuromięśniowych, które stanowią docelowe miejsce działania. Po związaniu cząsteczki toksyny z receptorem na zakończeniu motoneuronu uaktywniana jest cynkowo-zależna endoproteaza, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania uwalniania acetylocholino w synapsach oraz objawów porażenia wiotkiego (24). Reakcja łączenia się toksyny z odpowiednim receptorem jest szybka i nieodwracalna.

Ekologia *CLOSTRIDIUM BOTULINUM*

Cl. botulinum jest powszechną bakterią glebową, a jej przetrwalniki w związku z ich wysoką opornością na wysoką temperaturę i wysychanie mogą zachować żywotności w warunkach środowiskowych przez dłuższy czas. Występuje także w osadach morskich a także w treści jelit ptactwa i ssaków. Na przetrwanie spor w środowisku mają korzystny wpływ substancje organiczne obecne w osadzie wód i w glebie (25). W epidemiologii zatruc toksyną botulinową dużą rolę przypisuje się bezkręgowcom, gdyż same, niezależnie od ich postaci rozwojowej, niewrażliwe na jad kiełbasiany stają się źródłem utrzymywania się, a nawet namnażania form wegetatywnych *Cl. botulinum* i sporulacji, co prowadzi do zanieczyszczenia środowiska.

TOKSYNA BOTULINOWA JAKO ŚRODEK BIOTERRORYZMU

Toksyna botulinowa z uwagi na wysoką toksyczność, a także na pewne unikalne cechy od dawna była przedmiotem zainteresowania kół militarnych w związku z możliwością jej użycia jako broni biologicznej lub w celach bioterrorystycznych. Wykazuje ona toksyczność, przewyższającą znacznie toksyczność dotychczas znanych bojowych środków chemicznych. Jest 15 000 razy silniejsza od związku VX i około 100 000 razy od sarinu.

Najbardziej skuteczną drogą ataku toksyną botulinową jest droga aerozolowa; LD50 wynosi około 0,001 µg/kg. Dzięki symulacji komputerowej wykazano, że przy dawce inhalacyjnej toksyny 1,5 µg śmiertelność wyniesie 50%, a przy dawce > 2,4 µg aż 99%.

W związku z negatywnym oddziaływaniem czynników środowiskowych na toksynę, dla podwyższenia jej stabilności w formie aerozolowej zastosowano metodę mikrokap-sułkowania.

Teoretycznie atak bioterrorystyczny może mieć miejsce za pośrednictwem wody, a zwłaszcza przechowywanej w stałych zbiornikach wodnych. Skażenie toksyną botulinową ujęć wody pitnej ma mniejsze szansę powodzenia z uwagi na szybszy rozkład toksyny. Zakażona żywność może być wykorzystana w celach bioterrorystycznych, zwłaszcza jeśli nie jest ona poddawana obróbce termicznej. W rozważaniach na temat możliwych sposobów zastosowania toksyny botulinowej należy brać pod uwagę wyroby farmaceutyczne, które w postaci drażetek, pigułek i kapsułek, zapobiegają rozkładowi toksyny przez dłuższy czas.

Toksyna botulinowa była przedmiotem ofensywnych programów badawczych prowadzonych przez wiele państw przed podpisaniem Konwencji w 1972 roku. Także i w latach następnych niektóre państwa kontynuowały programy nad bronią biologiczną.

W 1990 r. Irak posiadał 100 bomb R400 napełnionych toksyną botulinową. Toksyną wypełniono także 13 głowic pocisków SCUD-Al.Hussain. Łącznie Irak wyprodukował 19 000 litrów zagęszczonej toksyny botulinowej, z czego 10 000 litrów użyto do uzbrojenia aeropocisków.

Toksyną botulinową stała się przedmiotem zainteresowania grup terrorystycznych. Tak np. japońska sekta Aumn Shinrikyo (Najwyższa Prawda) planowała użycie toksyny botulinowej w akcjach terrorystycznych. Świadczy o tym fakt wyprodukowania przez sektę znacznej ilości toksyny botulinowej oraz jej waponizacja.

PROBLEMY OCHRONY PRZED ATAKIEM TOKSYNĄ BOTULINOWĄ

Wykrywanie toksyny

Tradycyjne metody wykrywania toksyny botulinowej oparte na próbie biologicznej i teście seroneutralizacji na myszach nadal mają, także dzisiaj, nieocenioną wartość. Ich wadą jest jednak długi czas oczekiwania na wyniki badań. Ostatnie lata przyniosły rozwój nowoczesnych, precyzyjnych metod identyfikacji *Cl. botulinum* opartych na metodzie PCR (polymerase chain reaction). PCR stosowana jest do detekcji genów toksyczności *Cl. botulinum* typów A, B i E w żywności, próbkach środowiskowych i materiale klinicznym. Przy użyciu tej metody możliwe jest wykrycie około 3 komórek *Cl. botulinum* (26).

Wykrycie toksyny botulinowej w stosunkowo szybkim czasie jest możliwe przy użyciu metod immunologicznych, jak np. metody CLISA (chemiluminescence immunosorbent assay). Przy zastosowaniu wersji podwójnych przeciwciał wyniki uzyskuje się w ciągu 1 godziny. Wykazano przy tym 10-krotnie wyższą czułość tej metody w porównaniu z testem ELISA i hemaglutynacji (27). Po modyfikacji testu ELISA (ELISA-enzym-linked immunosorbent assay) osiągnięto znaczny wzrost czułości wynoszącą 5–10 pg/ml (28).

Dobre wyniki można uzyskać stosując technologie oparte na przeciwciałach monoklonalnych znakowanych koloidalnym złotem. Przykładem są testy typu SMART (sensitive membrane antigen rapid test) i ALERT system (antibody based lateral flow economical recognition ticket) (29). Dla potrzeb stałej gotowości obronnej (CRIPTS), wyprodukowano w USA ponad tysiąc zestawów ALERT boTx A/B.

Należy także wspomnieć o innych metodach wykrywania toksyny botulinowej jak np. cytometrii przepływowej oraz technik z użyciem skonwertowanego fosforu (30).

Szybkie wykrycie toksyny botulinowej decyduwać będzie o skuteczności przedsięwzięć profilaktyczno-leczniczych i zabiegów dekontaminacyjnych. W przypadku wczesnego wykrycia aerozolu biologicznego ochronny efekt można uzyskać stosując maski typu M 40 i kombinezony przeciw biologiczne.

W przypadku użycia toksyny botulinowej wskazane będzie zastosowanie wieloważnych surowic odpornościowych opartych na fragmencie F(ab)2 immunoglobulin. Zabiegi te są skuteczne, pod warunkiem, że surowice zostaną podane przed pojawieniem się objawów chorobowych.

Personel o wysokim ryzyku ekspozycji na toksynę botulinową poddaje się szczepieniom ochronnym, z użyciem pentawalentnego toksoidu. Stosuje się szczepienie podstawowe (0, 2, 12 tygodni) drogą podskórną, i dawkę przypominającą po upływie roku.

W czasie wojny w Zatoce Perskiej szczepieniom przeciwko botulizmowi poddano 8 000 żołnierzy amerykańskich (31).

Aktualnie pracuje się nad nową generacją szczepionek przeciw botulinowych uzyskiwanych metodami inżynierii genetycznej. Według planów Departamentu Obrony USA w 2003 roku będą osiągalne rekombinowane szczepionki przeciwko *Cl. botulinum* A, B, C, D i E (32).

W celu ochrony ludzi przed atakiem za pośrednictwem i wody należy zorganizować system zaopatrzenia żywnościowego w specjalne racje żywnościowe oraz w wodę butelkowaną pochodzącą z kontrolowanych źródeł.

Dekontaminacja

Dla celów dekontaminacji indywidualnej stosuje się mydło z wodą. Dobre wyniki, zwłaszcza przy dekontaminacji środowiskowej uzyskuje się przy użyciu związków chloru w koncentracji 3 mg/l w czasie około 20 minut (33) Wykazano także inaktywujące działanie ultradźwięków na toksynę botulinową. Obecnie pracuje się nad nowymi środkami przeznaczonymi do dekontaminacji, na bazie zaawansowanych technologii (34).

PIŚMIENNICTWO

1. Henderson I, Davis T, Elmore M. The genetic basis of toxin production in *Clostridium botulinum* and *Clostridium tetani*. W: The Clostridia. Molecular Biology and Pathogenesis, red. J.Rood, B.A. McClane, JG Songer, RW Titball, San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto: Academic Press; 1997: 261-94.
2. Foodborne Botulism From Eating Home-Pickled Eggs-Illinois, 1997. MMWR Weekly. 2000; 49: 778-80.
3. Foodborne Botulism-Oklahoma, 1994. MMWR Weekly. 1995; 44: 200-2.
4. Franciosa G, Ferreira JL, Hatheway ChL. Detection of type A, B and E botulism neurotoxin genes in *Clostridium botulinum* and other *Clostridium* species by PCR: evidence of unexpressed type B toxin genes in type A toxigenic organisms. J Clin Microbiol 1994; 32: 1911-7.
5. Mierzejewski J. Botulizm zwierząt domowych i dzikich. Warszawa: PWRiL; 1969: 54-175
6. Cygan Z, Buczek J. Toksynogenność laseczek *Clostridium* stwierdzanych w beztlenowcowych chorobach zwierząt. Medycyna Wet. 1997; 53: 464-7.
7. Kozaki S, Togashi S, Sakaguchi G. Separation of *Clostridium botulinum* type A derivative toxin into two fragments. Jpn J Med Sci Biol 1981; 34: 61-8.
8. Boroff DA, Nyberg S, Haglund S. Electron microscopy of the toxin and haemagglutinin of type A *Clostridium botulinum*. Infect Immun 1972; 6: 1003-7.
9. Inoue K, Fujinaga Y, Honke K, i in. Characterization of haemagglutinin activity of *Clostridium botulinum* type C and D 16S toxins, and one subcomponent of haemagglutinin (HA1). Microbiology 1999; 145: 2533-42.
10. Chen J, Kuziemko GM, Stevens RC. Biophysical Characterization of the Stability of the 150-kilodalton Botulinum Toxin, the Nontoxic Component, and the 900-Kilodalton Botulinum Toxin Complex Species. Infect Immun 1998; 66: 2420-5.
11. Ohishi I, Sakaguchi S. Oral toxicities of *Cl. botulinum* type C and D toxins of different molecular sizes. Infect Immun 1980; 28: 303-9.
12. Eidels L, Proia RL, Hart DA. Membrane receptors for bacterial toxins. Microbiol Rev Dec 1983; 47: 596-620.

13. Kozaki S, Miyazaki S, Sakaguchi G. Development of antitoxin with each of two complementary fragments of *Clostridium botulinum* type B derivative toxin. *Infect Immun* 1977; 18: 761 6.
14. Syuto B, Kubo S. Separation and characterization on heavy and light chains from *Clostridium botulinum* type C toxin and their reconstitution. *J Biol Chem* 1981; 250: 3712 7.
15. Sakaguchi G, Sakaguchi S, Kozaki S i in. Purification and some of properties *Clostridium botulinum* type AB toxin. *FEMS Microbiol Letters* 1986; 33: 23 9.
16. Ohishi I, Sakaguchi G. Activation of Botulinum Toxins in the Absence of Nicking. *Inf Immun* 1977; 17: 402 7.
17. Eklund MW, Poysky FT. Activation of a toxic component of *Clostridium botulinum* types C and D by trypsin. *Appl Microbiol* 1972; 24: 108 13.
18. Franciosa G, Fenicia L, Pourshaban M i in. Recovery of a strain of *Clostridium botulinum* producing both neurotoxin A and neurotoxin B from canned macrobiotic food. *Appl Environ Microbiol* 1997; 63: 1148 50.
19. Franciosa G, Hatheway CL, Aureli P. The detection of a deletion in the type B neurotoxin gene of *Clostridium botulinum* A(B) strains by a two-step PCR. *Lett Appl Microbiol* 1998; 26: 442 6.
20. Mierzejewski J. Właściwości hodowlane i toksyczne szczepu Nerz *Clostridium botulinum* typu C. *Pol Arch Wet* 1966; 9: 625 36.
21. Wound Botulism-California 1995. *MMWR Weekly*. 1995; 44: 889 92.
22. Kozaki S, Kamata Y, Nishiki T i in. Characterization of *Clostridium botulinum* Type B Neurotoxin Associated with Infant Botulism in Japan. *Infect Immun* 1998; 66: 4811 6.
23. Rozdział w książce. Zatrucie jadem kiełbasianym (Botulismus). W: Magdzik W, red. Choroby zakaźne i pasożytnicze. Zapobieganie i zwalczanie. Wyd. 3. Kraków: Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne „Vesalius”; 1993: 512.
24. Montecucco C, Schiavo G. Mechanism of action of tetanus and botulinum neurotoxins. *Mol Microbiol* 1994; 13: 1 8.
25. Smith LDs. Botulism. Illinois. USA: Charles Thomas Publisher Springfield; 159.
26. Szabo EA, Pamberton JM, Desmarchelier PM. Detection of the genes encoding botulinum neurotoxin types A to E by polymerase chain reaction. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59: 3011 20.
27. Ligieza J, Reiss J, Michalik M. Chemiluminescence immunosorbent assay (CLISA) and a possibility of the specific detection of soluble antigens of *Clostridium botulinum* type A. *Arch Immunol Ther Exp (Warszawa)* 1994; 42: 129 33.
28. Doellgast GJ, Beart GA, Bottoms JD i in. Enzyme-linked immunosorbent assay and enzyme-linked coagulation assay for detection of *Clostridium botulinum* neurotoxins A, B and E and solution-phase complexes with dual-label antibodies. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 105 11.
29. Von Bredow J, Myers M, Wagner D i in. Agroterrorism. Agricultural Infrastructure Vulnerability. W: Frazier TW, Richardson DC, red. Food and Agricultural Security. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2000; 849: 168 80.
30. Hampl J, Hall M, Mufti NA i in. Upconverting phosphor reporters in immunochromatographic assays. *Anal Biochem* 2001; 288: 176 87.
31. Christopher GW, Cieślak TJ, i in. Biological warfare. A historical perspective. *JAMA* 1997; 6: 412 8.
32. Joint Service Chemical and Biological Defense Program. Office of the Deputy Assistant to the Secretary of Defense. FY00-FY01 Overview;
33. Eitzen E, Pavlin J, Cieślak T. Medical management of biological casualties. Wyd. 3. Fort Detrick Frederic, Maryland: U.S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases; 1998: 86 9 4.

34. Baier R, Izzo C, Nicotera P. Self disinfecting and decontaminating interior surfaces based on photocatalytic Titania/Easy Rele ase Coatings Scientific Conference on Chemical and Biological Defense Research. 2001 March 6 8 ; Hunt Valley, 47.

Adres autorki:

Wiesława Palec

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

ul. Lubelska 2, 24 100 Puławy

STANISŁAWA TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA

RIKETSJOZY O POTENCJALE BIOTERORYSTYCZNYM

Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny

Riketsje są bezwzględnyimi pasożytami wewnątrzkomórkowymi, wywołującymi szerzące się epidemicznie zachorowania u ludzi. Z wyjątkiem gorączki Q, rozprzestrzenienie się zakażenia następuje z udziałem wektora, którym są różne rodzaje odżywiających się krwią stawonogów. Natomiast rezerwuarem tych drobnoustrojów są różne gatunki ssaków, a w przypadku epidemicznego duru wysypkowego człowiek (2).

Riketsjozy występują w różnych rejonach świata i w różnych krajach. Ich występowanie zależne jest od zasięgu i rozprzestrzenienia odpowiedniego wektora.

Podstawą podziału chorobotwórczych dla człowieka bakterii z rodzaju *Rickettsia* są objawy kliniczne i charakterystyczne zmiany skórne, jakie obserwuje się u człowieka zakażonego danym gatunkiem. Na tej podstawie wyodrębniono grupę duru wysypkowego i grupę gorączek plamistych. Do pierwszej należą: przenoszona przez wszy *R. prowazeki*, która wywołuje epidemiczny dur wysypkowy oraz przenoszona przez pchły szcurze *R. mooseri* odpowiedzialna za dur szcurzy. Wśród ludzi największe żniwo przez wieki zbierał epidemiczny dur wysypkowy. Obecnie w Europie poprzez odpowiednie zabiegi sanitarne i higieniczne, profilaktykę oraz oświatę epidemiczny dur wysypkowy należy do przeszłości (3).

Do grupy gorączek plamistych należy około 30 gatunków riketsji, w tym, do najczęściej występujących na terenie Ameryki należy *R. rickettsii* – czynnik etiologiczny gorączki plamistej Gór Skalistych, *R. conori*, odpowiedzialna na „starym kontynencie” za gorączkę śródziemnomorską i *R. sibirica* wywołująca północnoazjatycką gorączkę kleszczową. Rezerwuarem tych drobnoustrojów są różne gatunki ssaków wśród których zakażenie przenoszone jest przez określone gatunki kleszczy. Swoistość gatunkowa przenosiela determinuje zasięg występowania tych chorób (2, 3).

Charakterystycznymi dla riketsjoz objawami, obok zmian skórnych, są: wysoka gorączka, uszkodzenie naczyń krwionośnych, prowadzące w konsekwencji do zwyrodnienia, a nawet martwicy otaczających tkanek i zaburzeń układu krążenia. Ponadto w przebiegu zarówno duru wysypkowego jak i gorączek plamistych dochodzi często do zajęcia ośrodkowego układu nerwowego i wystąpienia objawów zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu. Jest to przyczyną występowania u tych chorych między innymi odurzenia i utraty przytomności. Wszystkie objawy mogą występować z różnym nasileniem. Nie leczone riketsjozy prowadzą w niektórych przypadkach do śmiertelności przekraczającej 50% (2).

Do odrębnego rodzaju riketsji należy *Coxiella burnetii*. Drobnoustrój ten jest czynnikiem etiologicznym gorączki Q. W środowisku naturalnym stałym rezerwuarem C.

burnetii są kleszcze i drobne ssaki, głównie gryzonie. W najbliższym otoczeniu człowieka głównym rezerwuarem są zwierzęta hodowlane, takie jak owce, bydło, kozy itp. Przeniesienie zakażenia nie wymaga przenosiela. Do zakażenia dochodzi w wyniku kontaktu z zakażonymi zwierzętami, które wydają drobnoustrój z moczem, mlekiem i podczas porodu z wodami płodowymi. Najczęściej drobnoustrój wnika przez drogi oddechowe (wdychanie kurzu i aerozolu, rzadziej przez przewód pokarmowy, drogą płciową lub uszkodzoną skórę (1).

Przebieg choroby i nasilenie objawów jest zróżnicowane – od formy ostrej, manifestującej się wyraźnymi objawami klinicznymi, do zakażenia bezobjawowego. Ostre, uogólnione zakażenie charakteryzuje się wysoką gorączką dochodzącą do 40°C, silnym bólem głowy, ogólnym złym samopoczuciem i osłabieniem. Może wystąpić atypowe zapalenie płuc, objawy ze strony centralnego układu nerwowego. Najczęściej obserwowane są objawy grypopodobne. Niezależnie od nasilenia objawów ostrej fazy, gorączka Q może przejść w formę przewlekłą, której głównym powikłaniem jest zapalenie wsierdza, prowadzące do uszkodzenia zastawek. Ocenia się że śmiertelność z powodu zapalenia wsierdza o tej etiologii dochodzi do ponad 40% (1).

Obecnie przypadki gorączki Q stwierdza się na wszystkich kontynentach. W Europie znana jest od czasu II wojny światowej. W 1943 roku podczas występującej w Atenach epidemii choroby przypominającej grypę, z krwi chorego wyizolowano szczep *C. burnetii*. Zachorowania te opisywano wcześniej jako występujące na tym terenie endemicznie i nazywano „grypą bałkańską”. Izolację szczepów poprzedziły intensywne badania prowadzone z powodu licznych zachorowań występujących w armii niemieckiej okupującej w tym czasie Grecję. Wraz z przesuwaniem się frontu w latach 1944–45 ogniska gorączki Q odnotowano wśród żołnierzy amerykańskich stacjonujących na Korsyce, a następnie wśród żołnierzy brytyjskich w północnych Włoszech. Przypuszcza się że gorączka Q występowała przed II wojną światową na półwyspie Apenińskim endemicznie. W następnym dziesięcioleciu choroba rozprzestrzeniła się i przypadki choroby odnotowano w większości krajów europejskich (4).

PIŚMIENNICTWO

1. Kazar J. Q fever – current concept. W: Raoult D, Brouqui P, red. Rickettsiae and rickettsial diseases at the turn of the third millennium. Paris, elsevier 1999: 304–19.
2. Kostrzewski J. Riketsjozy. W: Magdzik W, red. Choroby zakaźne i pasożytnicze. Wyd. III. Kraków, Uniwersyteckie Wydawnictwo Medyczne „Versalius” 1993: 288–97.
3. Kostrzewski J, Tylewska-Wierzbanowska S. Dur wysypkowy. W: Kostrzewski J, Magdzik W, Naruszewicz-Lesiuk D, red. Choroby zakaźne i ich zwalczanie na ziemiach polskich w XX wieku. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2001; 207–14.
4. Tylewska-Wierzbanowska. Gorączka Q. W: Kostrzewski J, Magdzik W, Naruszewicz-Lesiuk D, red. Choroby zakaźne i ich zwalczanie na ziemiach polskich w XX wieku. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2001; 220–4.

Adres autorki:

Stanisława Tylewska-Wierzbanowska
Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny
ul. Chocimska 24, 00 791 Warszawa

MICHAŁ BARTOSZCZE

MOŻLIWOŚCI ROZPOZNANIA ZAGROŻEŃ BIOLOGICZNYCH

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii
Komendant: płk. prof. dr hab. K. Chomiczewski

Omówiono problemy wykrywania i identyfikacji czynników biologicznych w aspekcie obrony przed bronią biologiczną i bioterroryzmem.

W ostatnich latach obserwuje się duże zainteresowanie problemami broni biologicznej i bioterroryzmu (1, 2, 3, 4). Ten wzrost zainteresowania związany jest z jednej strony z nowymi zagrożeniami jakie stwarza rozwój biotechnologii, z drugiej zaś bardzo atrakcyjnymi cechami broni biologicznej, jak np. łatwość produkcji, wysoka skuteczność, możliwość ukrycia, trudności w wykryciu oraz niska cena.

Na badania i działania związane z obroną przed bronią biologiczną i bioterroryzmem przeznaczają się duże środki finansowe (5), zwłaszcza w krajach wysoko rozwiniętych, gdzie świadomość tego typu zagrożeń wśród decydentów jest bardzo wysoka.

O możliwościach ochrony przed czynnikami zakaźnymi decydować będzie m.in. szybkie wykrycie i identyfikacja zagrożeń oraz podejmowanie sprawnych działań profilaktyczno-leczniczych oraz likwidacyjnych.

W rozważaniach nad problemami wykrywania i identyfikacji czynników biologicznych należy brać pod uwagę różne możliwe scenariusze ataku.

Wczesne wykrycie ataku biologicznego daje największe szanse ochrony aglomeracji miejskich oraz dużych zgrupowań wojsk. Do szybkiego wykrycia aerozolu biologicznego skonstruowano m.in. system LIDAR (Light Detection and Ranging), w którym zachodzi koncentracja aerozolu, a dzięki pulsacyjnemu laserowi wzbudzającemu fluorescencję, istnieje możliwość wykrycia aerozolowych cząstek biologicznych na odległość około 100 km. Systemy takie mogą współpracować m.in. z satelitami oraz zespołami wczesnego ostrzegania typu AWACS. Sygnalizowana informacja o nadchodzącym ataku aerozolowym stwarza możliwość zastosowania tzw. pasywnych środków ochronnych, jak kombinezony i maski przeciwbiologiczne z filtrem HEPA (maski typu M-40), ukrycia się w specjalnych schronach itd. Przeznaczony do tych samych celów jest system LR-BSDS (Long Range Biological Standoff Detection System), który pozwala na wykrycie cząstek aerozolowych na odległość do 40 km (1, 6)

Z chwilą nadejścia chmury aerozolowej pobiera się próbki do badań i dokonuje wstępnej identyfikacji czynnika biologicznego. Trwa to od kilku do kilkunastu minut, co pozwala na szybkie podejmowanie dalszych decyzji profilaktyczno – likwidacyjnych (dekontaminacja indywidualna, dezynfekcja środowiska oraz obiektów i sprzętu).

Podczas operacji „Pustynna burza”, zastosowano system BIDS (Biological Integrated Detection System), w którym, po wstępnej identyfikacji testami typu SMART, próbki

poddawano dalszej analizie metodą cytometrii przepływowej, spektrometrii masowej oraz testami immunologicznymi. System ten jest ciągle rozwijany i udoskonalany. Tak np. technologia IBAD (The Interim Biological Agent Detector) pozwala na wykrycie 8 czynników biologicznych w ciągu 15 minut (6).

Należy jednak podkreślić, że końcową identyfikację czynników biologicznych przeprowadza się w wysocze specjalistycznych laboratoriach, dysponujących szerokim wachlarzem technik, zwłaszcza z zakresu biologii molekularnej, z analizą sekwencji włącznie. Systemy wczesnego wykrywania zagrożeń biologicznych winny być instalowane na stacjach metra, w centrach wyborczych, w ośrodkach sportowych (olimpijskich), a w przypadku wojska w portach wojennych, wokół lotnisk, na obrzeżach zgromadzeń taktycznych i operacyjnych.

Innym przykładem nowszych rozwiązań jest system Portal Shield, działający w oparciu o metodę immunochromatografii. Dzięki specjalnym matrycom, można prowadzić jednoczesną identyfikację 8 patogenów w ciągu 20 minut (6). Instalowanie systemów wykrywania zagrożeń biologicznych wskazane jest także i w innych miejscach jak np. na przejściach granicznych, dla kontroli ewentualnego przemytu materiałów biologicznych. Mogą być zastosowane do tego celu zarówno nieswoiste metody wykrywania jak np. techniki luminometryczne oparte na pomiarze bakteryjnego ATP (7, 8, 9) oraz swoiste, szybkie testy immunochromatograficzne. Także i w tym przypadku, potwierdzenie ostateczne wstępnych wyników analiz będzie wykonywane w laboratoriach referencyjnych (7).

Zapobieganiu nielegalnemu transferowi czynników biologicznych – szczepów bakterii, wirusów, a także toksyn, ma istotne znaczenie dla zwalczania światowego bioterroryzmu.

W przypadku pojawienia się ognisk chorób zakaźnych, w zależności od użytego środka biologicznego, rozpoznanie choroby na podstawie objawów klinicznych może być znacznie utrudnione, a nawet niemożliwe. Tak np. w przypadku użycia broni typu mix, zawierającej mieszkankę różnych czynników biologicznych, objawy chorobowe mogą być nietypowe. Diagnostyka kliniczna może także być trudna przy zastosowaniu dla celów bioterrorystycznych genetycznie modyfikowanych drobnoustrojów. Należy także brać pod uwagę i inne ograniczenia diagnostyczne wynikające np. z braku doświadczenia personelu medycznego, co wynika z faktu, że niektóre choroby występują rzadko (wąglik), a inne już dawno zostały wyeliminowane w naszym kraju (nosaczka).

Trudna może okazać się także odpowiedź na pytanie, czy powstałe ogniska są wynikiem ataku bioterrorystycznego, czy też, powstały one w sposób naturalny. Pożyteczny w tym zakresie może być stały monitoring epidemiologiczny, dający wgląd w sytuację panującą w naszym kraju. Biorąc po uwagę wspomniane ograniczenia diagnostyki klinicznej, kluczowa rola przypadnie szybkiej diagnostyce mikrobiologicznej, decydującej o dalszej strategii działania.

Przedmiotem badań będą próbki pobrane zarówno od chorych i podejrzanych o zakażenie, jak i próbki środowiskowe z domniemanych miejsc ataku – ziemia, woda, wymazy ze sprzętu, kombinezonów i części pocisków, owady, drobne gryzonie itp.

Właściwe pobieranie próbek przez przygotowany merytorycznie personel oraz ich transport do laboratorium mają duże znaczenie dla uzyskania poprawnych wyników diagnostycznych. Próbki winny trafiać do laboratorium w jak najkrótszym czasie.

Zakłada się, że próbki pobrane przez zespoły wojskowe zostaną przesłane do laboratorium referencyjnego w czasie około jednej godziny, co będzie możliwe przy użyciu helikopterów. Należy przy tym pamiętać, że próbki podejrzane o obecność czynników niebezpiecznych, kierowane będą tylko do laboratorium referencyjnego przygotowanego do pracy z tego typu materiałem (10). Lista takich laboratoriów powinna być znana wszystkim zainteresowanym zwalczaniem zagrożeń biologicznych. Według standardów NATO wskazane jest stosowanie trzech poziomów diagnostycznych: identyfikacji wstępnej, badań genetycznych oraz biochemicznych. Rozpoznanie wstępne wykonuje się przy użyciu klasycznych testów serologicznych w tym: ELISA, metod immunochromatograficznych (ICrA) z użyciem znakowanych koloidalnym złotem przeciwciał monoklonalnych – SMART (11), fluorescencyjnych, cytometrii przepływowej (FC) itp. Testy tego typu służą ukierunkowaniu badań, są przydatne zwłaszcza w warunkach polowych, a ich główną zaletą jest szybkość otrzymania wyników. Wspomniana wcześniej technika cytometrii przepływowej znajduje zastosowanie w badaniach diagnostycznych próbek wody, powietrza, a także żywności (12). Zaletami cytometrii przepływowej są szybkość, czułość i swoistość, a wadą wysoka cena aparatu. Wstępne wykrycie obecności czynnika biologicznego musi być potwierdzone przy użyciu technik genetycznych. Najczęściej stosowaną w tym celu jest technika PCR – polimerazowej reakcji łańcuchowej, która jest „złotą” metodą identyfikacji zarazków. Podstawowymi warunkami wykonania testu są m.in. posiadanie odpowiedniej aparatury, sprzętu, odczynników oraz dysponowanie bankiem primerów, dzięki czemu możliwe jest przeprowadzenie badań w krótkim czasie po otrzymaniu próbek. Posiadanie banku primerów decyduje także o utrzymaniu systemu w ciągłej gotowości. Bank musi obejmować szerokie spektrum swoistych sekwencji dla możliwych do użycia w ataku bioterrorystycznym patogenów. Wyniki badań wstępnych i genetycznych należy skonfrontować z rezultatami badań biochemicznych. Jednym z istotnych elementów wykonania badań genetycznych jest przeszkolenie personelu w zakresie wykrywania niebezpiecznych patogenów z listy A i B (13). Jest to niełatwe w związku z trudnościami w uzyskaniu do badań szczepów wzorcowych, objętych restrykcjami międzynarodowymi. Należy także brać pod uwagę, że laboratoria, wykonujące tego typu badania, muszą odpowiadać kryteriom bezpieczeństwa pracy, stosownie do zagrożeń ze strony konkretnych patogenów, będących przedmiotem zainteresowania. Większość niebezpiecznych patogenów może być identyfikowana w laboratoriach drugiej lub trzeciej klasy bezpieczeństwa, a niektóre aż w czwartej klasie jak np. wirusy gorączek krwotocznych. Brak wspomnianych możliwości stanowi poważną barierę dla stworzenia odpowiedniego potencjału diagnostycznego.

Niezwykłe pożyteczne z tego względu, są organizowane od 1998 roku ćwiczenia międzynarodowe nad wykrywaniem wybranych czynników biologicznych, stanowiących potencjalne zagrożenie dla ludzi i zwierząt. W ćwiczeniach tych bierze od trzech lat udział WIHiE (14). Z uwagi na bezpieczeństwo, do laboratoriów diagnostycznych przesyłane są próbki, poddane wcześniej inaktywacji przy użyciu bomby kobaltowej. Dla utrudnienia identyfikacji oraz dla imitacji warunków środowiskowych, próbki są zanieczyszczane sztucznie, dodatkiem ziemi, osadu dymu lub innych czynników mogących interferować w odczynach diagnostycznych. Ćwiczenia tego typu pozwalają na przygotowanie laboratoriów do poważnych misji diagnostycznych w ramach obrony przed bioterroryzmem i bronią biologiczną.

Przy użyciu metod biologii molekularnej uzyskuje się najbardziej precyzyjne wyniki identyfikacji zarazków. Z drugiej jednak strony, nie należą one do metod szybkich. Z tych powodów podejmuje się intensywne wysiłki zmierzające do uproszczenia procedur i skrócenia czasu przeprowadzenia badań. Wykazano na przykład możliwość jednoczesnego badania techniką PCR różnych patogenów, przy zastosowaniu identycznego profilu termicznego. Testowane są układy, umożliwiające odczytywanie reakcji amplifikacji w czasie jej trwania, z pominięciem elektroforezy, dzięki czemu uzyskuje się znaczne skrócenie czasu przeprowadzenia badań (15). Bardzo obiecująco przedstawiają się prace nad połączeniem cytometrii przepływowej z techniką PCR, dzięki czemu stwarza się warunki do szybkiej analizy długości, pociętych enzymami restrykcyjnymi fragmentów kwasów nukleinowych. Wielkie nadzieje wiążą się z technologiami tzw. "czipowymi", oraz biosensorami (16). Dla celów epidemiologicznych stosowane są, w zależności od potrzeb, inne techniki biologii molekularnej jak np.: PCR fingerprinting (17) a w szczególnych przypadkach przeprowadza się analizę sekwencji kwasów nukleinowych.

Przy omawianiu zagadnień, związanych z identyfikacją czynników biologicznych, należy wspomnieć o konieczności przygotowania laboratoriów do wykrywania nowych czynników uzyskanych metodami inżynierii genetycznej. Poszukiwanie "wilka w owczej skórze", obrazowo ukazuje przyszłe trudności diagnostyczne. Klasyczne bowiem metody diagnostyczne będą miały, w tym przypadku, ograniczone znaczenie. Należy tu stosować metody biologii molekularnej, przy uwzględnieniu znacznej liczby znanych, charakterystycznych sekwencji zasad dla określonych czynników biologicznych.

Innym podejściem do tych zagadnień jest analiza składu aminokwasów w produktach białkowych drobnoustrojów, a następnie, ustalenie na tej podstawie sekwencji zasad kwasów nukleinowych. Dzięki informacjom zawartych w bankach genów, rozpoznanie użytego czynnika nie powinno nastroczać większych trudności.

Niestety, analizy powyższe są czasochłonne i nie dają możliwości otrzymania wyników badań w krótkim czasie. Należy mieć nadzieję, że w najbliższym czasie dokona się w tym względzie istotny postęp.

PIŚMIENNICTWO

1. Busbee WL. Chemical and biological threats and responses: a U.S. perspective. International Symposium on Protection against Chemical and Biological Warfare Agents; 1998 May 10 1 5; Stockholm, 17 2 5.
2. Bartoszcze M, Maliński M. Polish army veterinary services provides protection against threat of biological Agent. AAVDM News Letter 2001;5:9.
3. Henderson DA. Bioterrorism as a public threat. Emerg Inf Dis 1998; 4: 1 6.
4. Merka V, Klein L. Biological terrorism, XXXIII International Congress on Military Medicine; 2000 May 10 1 5; Helsinki, 51.
5. Editorial Notes. CDC Releases close to \$ 41 million for biodefense quarterly 1999; 1:2.
6. Walt DR, Franz DR. Biological warfare detection. Analytical Chemistry 2000; 72: 738A-46A.
7. Bartoszcze M, Chomiczewski K, Malewicz J, Maliński M. Defense against biological warfare-potential and limitation. XXXIII International Congress on Military Medicine; 2000 May 10 1 5; Helsinki, 52.
8. Bartoszcze M, Bielawska A. The past, present and future of luminometric methods in biological detection. W: Stopa P, Bartoszcze M, editors. Rapid methods for analysis of

- biological materials in the environment. Dordrecht, Boston-London: Kluwer Academic Publishers; 2000: 73 7 .
9. Bartoszcze M, Arciuch H, Chomiczewski K, Matras J. Some problems concerning application of the luminometric methods in the detection of *Bacillus anthracis* spores. Proc. of the 1996 ERDEC Conference on Chemical and Biological Defense Research 1997; 19 22 November; Aberdeen Proving Ground; 711 12.
 10. Bartoszcze M. Poziomy bezpieczeństwo w laboratoriach mikrobiologicznych. Ogólnopolska Konferencja Szkoleniowa. Biologiczne Zagrożenia Bezpieczeństwa Kraju-Ryzyko Zakażenia Szczególnie Niebezpiecznymi Patogenami 15 1 6 marca 2001; Warszawa.
 11. Hasan J, Loomis L, Trudil D. New technologies for detection and identification of bacteria. XIV International Conference on Microbiological Diagnostics; May 26 1998; Puławy, 3.
 12. Stopa P. The application of flow cytometry for the detection and identification of microbiological agents. Doctors Dissertation. Military Institute of Hygiene and Epidemiology; 1999. Puławy.
 13. Editorial Notes. CDC Ranks bioagents in terms of public health threat. *biodefense quarterly* 1999; 1:3,
 14. Bartoszcze M. NATO BW Lab Exercise 2000. European Military Veterinary Medical Symposium; 2000 23 2 7 October; Wiesbaden; 4.
 15. Delveccio V, Redkar R. Use of tagman, light cycler, and confocal microscopy to detect specific PCR. W. Stopa P, Bartoszcze M. edit. *Rapid Methods for Analysis of Biological Materials in the Environment*. Dordrecht-Boston-London. Kluwer Academic Publishers, 2000, p. 231.
 16. Donlon M. New Approaches to Microbial Identification. XIV International Conference on Microbiological Diagnostics; 1998 May 26; Puławy, p.1.
 17. Patra G, Rose S, Redkar R, DelVeccio V. Rapid detection and molecular fingerprinting of *Bacillus anthracis*. International Conference on Microbiological Diagnostics; 1999 May 20; Puławy, p. 2.

Adres autora:

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

Lubelska 2, 24 1 00 Puławy

tel/fax (081) 886 28 22, e-mail: obwwihe@man.pulawy.pl

ROMAN ŁAKOMY

WYKRYWANIE CZYNNIKÓW ATAKU BIOTERRORYSTYCZNEGO METODĄ PIROLITYCZNEJ CHROMATOGRAFII GAZOWEJ

Zakład Higieny i Ekologii Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii
Kierownik: płk dr hab. Jerzy Bzdęga prof. nadzw.

Możliwość zastosowania bojowych środków biologicznych (bsb) w celu ataku terrorystycznego rodzi konieczność szybkiego ich wykrywania. Choć w ostatnich latach wiele robi się w celu wyposażenia oddziałów rozpoznania skażeń w nowoczesne środki do indykacji bsb to problem ten wydaje się być nie do końca rozwiązany (1). Stacje Obliczeniowo-Analityczne Skażeń będące w gestii wojsk chemicznych są dobrze wyposażone i przygotowane do monitorowania skażeń chemicznych i promieniotwórczych. W systemie monitorowania skażeń po użyciu broni masowego rażenia (bmr) widoczny jest brak systemów automatycznej analizy skażeń biologicznych.

Przyczynkiem do rozwiązania tego problemu może być próba zastosowania pirolitycznej chromatografii gazowej do wykrywania bakteryjnych bsb.

Metodą chromatografii gazowej można badać w materiale biologicznym związki chemiczne lotne i stabilne w temperaturze pracy kolumny chromatografu (80-300°C) oraz możliwe do wykrycia przez detektory chromatograficzne. Najczęściej bada się płyny ustrojowe (krew, mocz), środki spożywcze pochodzenia roślinnego i zwierzęcego oraz różne związki organiczne w żywych organizmach. Szczególnie duże zastosowanie metoda chromatografii gazowej znalazła w mikrobiologii.

Metodą tą można badać:

- produkty metabolizmu (kwasy tłuszczowe niskocząsteczkowe, aminy, produkty gazowe),
- elementy ściany komórkowej (kwasy tłuszczowe, cukry, aminy i aminokwasy),
- całe komórki bakteryjne.

Metody te mogą być przydatne do poznania budowy komórki jak i celów taksonomicznych.

Pierwszą pracę, gdzie zastosowano chromatograf gazowy do badań biologicznych opublikowali w 1952 r. James i Martin (8). Opisali oni metodykę oznaczania składu kwasów tłuszczowych z zastosowaniem chromatografu gazowego. Do detekcji zastosowano detektor chemiczny, mało precyzyjny i dość kłopotliwy w pracy. Zastosowanie detektora płomieniowo-jonizacyjnego znacznie usprawniło możliwość oznaczania kwasów tłuszczowych. Obecnie bakteryjne kwasy tłuszczowe, w formie estrów (najczęściej metylowych), oznaczają się na chromatografie gazowym z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym. Stosując detektory radiojonizacyjne można użyć do estryfikacji alkoholi z pierwiastkami elektrofilnymi (2). Do rozdziału kwasów używa się

obecnie wysokosprawnych kolumn kapilarnych pracujących w warunkach programowanej temperatury (3, 12).

Problemy natury technicznej w zastosowaniu chromatografii gazowej do diagnostyki mikrobiologicznej i problemy koncepcyjne były przyczynami dla których pirolityczna chromatografia gazowa nie stała się rutynowym narzędziem w laboratorium mikrobiologicznym.

Rozumowanie analityków chromatograficznych było następujące: skoro istnieją w komórce bakteryjnej związki chemiczne powodujące reakcje charakterystyczne dla danego szczepu bakterii to należy te związki znaleźć. Znaleziony charakterystyczny związek powodujący specyficzną reakcję pozwalałby wnioskować o tym z jakim szczepem bakterii mamy do czynienia. Chromatografia gazowa jako precyzyjna metoda analizy instrumentalnej wydawała się być idealnym narzędziem do wykorzystania w tych poszukiwaniach. Poszukiwania markerów prowadzono w produktach metabolizmu oraz w elementach jądra komórki i ściany komórki. Mimo poszukiwań nie znaleziono markerów charakterystycznych tylko dla danego rodzaju (7).

Jak już wspomniano metodą chromatografii gazowej mogą być badane tylko związki lotne w temperaturze pracy kolumny. W materiale biologicznym ogranicza to praktyczne zastosowanie tej metody do badania związków chemicznych o temperaturze wrzenia do 300°C. Związki o wyższej temperaturze wrzenia można badać metodą chromatografii gazowej po uprzedniej fragmentacji termicznej w warunkach beztlenowych. Taki termiczny rozpad nazywamy pirolizą a urządzenie w którym zachodzi ten proces pirolizerem. W chromatografii gazowej pirolizer zamontowany jest w dozowniku lub bezpośrednio przed nim. Przez pirolizer przepływa gaz nośny (argon, hel, azot), zapewniający warunki beztlenowe i w jego strumieniu produkty pirolizy przenoszone są na kolumnę chromatograficzną. Rozpad substancji w pirolizerze następuje na skutek ogrzania przez drut oporowy lub ferromagnetyczny.

Do badania produktów pirolizy materiału biologicznego chromatograf gazowy po raz pierwszy zastosował Oyama (14). Celem pracy było wykazanie przydatności pirolitycznej chromatografii gazowej do detekcji i identyfikacji życia na Marsie. Do rozdzielania spirolizowanych substancji zastosował Oyama kolumnę z 15% SE 30 na Chromosorbie W o rozdrobnieniu 60/80 mesh. Od tego czasu ukazało się szereg prac w których próbowano rozwiązać problemy techniczne tej metody (5, 6, 10, 11, 16, 17).

Z punktu widzenia chemii strukturalnej komórkę bakterii można traktować jako biopolimer (elementy ściany komórkowej, materiał genetyczny itp.). Produktami rozpadu pirolitycznego będą więc monomery lub fragmenty polimerów. Simonds badając *Bacillus subtilis* i *Micrococcus lysodeikticus* pirolityczną chromatografią gazową ze spektrometrią masową zidentyfikował ponad 40 związków chemicznych powstałych z ich rozpadu (15). Zidentyfikowane produkty pirolizy korelowano z biopolimerami komórki bakteryjnej z której pochodziły. Z rozkładu białek bakteryjnych otrzymano m.in.: etanonitryl, benzonitryl, indol, fenol, krezol, tlenek etylenu; z węglowodanów: akroleinę aceton, butanon, propanal, furan, furfuroł, benzen; z kwasów nukleinowych: akrylonitryl, pirydynę, metylopirydynę; z lipidów: akroleinę, etylen, butylen i propylen. Próby korelowania produktów pirolizy ze składnikami komórki nie przyniosły oczekiwanych rezultatów (3). Nie udało się również znaleźć pików – markerów charakterystycznych dla danego szczepu lub rodzaju. Dlatego trudności w różnicowaniu bakterii metodą

pirolitycznej chromatografii gazowej były przeszkodą z powodu której metoda ta nie została rozpowszechniona. Dopiero zastosowanie spektrometru masowego z chromatografem gazowym i technik komputerowego wspomaganie procesu chromatograficznego dało nowe możliwości wykorzystania tej techniki do celów rozpoznania biologicznego (13).

Współczesne chromatografy są wyposażone w komputerowe systemy (9):

- nadzorowania parametrów procesu chromatograficznego,
- archiwizacji sygnału z detektora,
- tworzenia baz danych z chromatogramami wzorcowymi do porównań,
- porównywania chromatogramów zebranych z zawartością bazy danych.

Nadzorowanie parametrów procesu chromatograficznego przez mikroprocesor zapewnia utrzymywanie stałej temperatury dozownika, precyzyjnego sterowania temperaturą termostatu, stałą temperaturę detektora. Mikroprocesor kontroluje również przepływ gazu nośnego mającego tak jak temperatura zasadniczy wpływ na jakość procesu chromatograficznego. Problemy w ilościowym nanoszeniu bakterii na pirolizer zostały rozwiązane w sposób matematyczny. Wartość sygnału z detektora może być każdorazowo normalizowana do zadanych warunków brzegowych i w ten sposób znormalizowany chromatogram może być porównywany z bazą danych wzorcowych (18). Wykonywanie tych operacji w czasie rzeczywistym lub natychmiast po zakończeniu analizy jest możliwe dzięki potencjałowi mikroprocesora mogącemu jednocześnie obsługiwać wiele strumieni informacyjnych.

Łatwo zauważyć, że taki chromatograficzno-komputerowy system detekcji bakteriologicznej bsb nadaje się do automatyzowania i sprzęgania z elektrycznymi obwodami alarmowymi. Możliwości takie daje karta AD/DA, czyli analogowo-cyfrowy i cyfrowo-analogowy przetwornik sygnału. Jeśli w komputerze wykonującym analizę pracuje jednocześnie program wspomaganie decyzji to wypracowana przez ten program informacja o znalezieniu w bazie danych chromatogramu odpowiadającego bakteryjnym bsb może być natychmiast zamieniona na sygnał wykonawczy dla systemów alarmowych, systemów nadzorowania układów filtrowentylacyjnych w obiektach specjalnych.

Do ciągłego zbierania aerozolu bsb, pirolizy i automatycznego przetwarzania danych Bzdęga i Rogoziński opracowali w Zakładzie Higieny Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii elektrofiltr połączony z pirolizerem PIR-1 (4). Urządzenie to daje możliwość cyklicznego zbierania próbek aerozolu a następnie, po odwróceniu kierunku podawanego napięcia na elektrody, dokonania pirolizy zebranego materiału. Produkty pirolizy są wtedy podawane na kolumnę chromatograficzną i dalej analizowane. Taki elektrofiltr pracujący w 30 min. cyklu zbierania i pirolizowania próbki może monitorować stałe obiekty techniki wojskowej takie jak schrony, stanowiska dowodzenia, czerpnie powietrza. Wtedy co godzinę można uzyskać odpowiedź na pytanie o użycie bakteryjnej bsb.

Jeśli indykację bakteryjnych bsb rozumieć jako dwubitową (tak, nie) odpowiedź na pytanie czy użyto bsb, to uzyskiwane wyniki można uznać za zachęcające do użycia pirolitycznej chromatografii gazowej jako narzędzia do indykacji.

PIŚMIENNICTWO

1. Alibek K, Handelman S. Biohazard. Hutchinson, London 1999.

2. Alley CC, Brooks JB, Choudhary G. Electron capture gas-liquid chromatography of short chain acids as their 2,2,2-trichloroethyl esters. *Anal Chem* 1976; 48: 387.
3. Bzdęga J. Zastosowanie pirolitycznej chromatografii gazowej w diagnostyce mikrobiologicznej. *Rocznik WIHE* 1988; 26: 209.
4. Bzdęga J, Rogoziński A. Patent nr 149473 i nr 262314.
5. Emswieller BS, Kotula AW. Differentiation of Salmonella serotypes by pyrolysis gas liquid chromatography of cell fragments. *Appl Envir Microbiol* 1978; 35: 97.
6. Haddadin JM, Stirland RM, Preston NW, Collard P. Identification of Vibrio cholerae by pyrolysis gas liquid chromatography. *Appl Microbiol* 1973; 25: 40.
7. Holdeman LV, Moore WEC. Anaerobe laboratory manual. Virginia Polytechnic Institute. Blacksburg 1972.
8. James AT, Martin AJP. Gas liquid partition chromatography: the separation of micro-estimation of volatile fatty acids from formic and to dodecanoic acid. *J Biol Chem* 1952; 50: 679.
9. Łakomy R. Konfiguracja chromatograf gazowy-komputer w połączeniu bezpośrednim do oznaczania produktów pirolizy materiału biologicznego. *Rocznik WIHE* 1993; 30: 93.
10. Menger FM, Epstein GA, Goldberg DA, Reiner E. Computer matching of pyrolysis chromatograms of pathogenic microorganisms. *Anal Chem* 1972; 44: 423.
11. Meuzeelaar HLC, Veld RA. A technique for Curie point pyrolysis gas chromatography of complex biological samples. *J Chromatog Science* 1972; 10: 213.
12. Mitruka BM. Gas chromatographic applications in microbiology and medicine. New York Wiley, 1975.
13. Moldoveanu SC. Analytical pyrolysis of natural organic polymers. Elsevier, Amsterdam 1998.
14. Oyama VJ, Carle GC. Use of gas chromatography for the detection of life on Mars. *Nature* 1963; 200: 1058.
15. Simmonds PG. Whole microorganisms studies by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry: Significance for extraterrestrial life detection experiments. *Appl Microbiol* 1970; 20: 567.
16. Stack MV, Donoghue HD. Discrimination oral Streptococci by pyrolysis gas liquid chromatography. *Appl Envir Microbiol* 1978; 35: 45.
17. Stern NJ, Kotula AW, Pierson MD. Differentiation of selected Enterobacteriaceae by pyrolysis-gas-liquid chromatography. *Appl Environ Microbiol* 1979; 38: 826.
18. Zalewska-Schonhaler N, Łakomy R, Bzdęga J. Próba szybkiego różnicowania wybranych gatunków Mykobakterii metodą pirolitycznej chromatografii gazowej. *Pneumonologia i Alergologia Polska* 1993; 61: 606 9.

Adres autora:

Roman Łakomy

Zakład Higieny i Ekologii

Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii

ul. Kozielska 4

Warszawa

KRZYSZTOF CHOMICZEWSKI

ZASADY POSTĘPOWANIA W PRZYPADKU ATAKU BIOTERRORYSTYCZNEGO

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii
im. gen. K. Kaczkowskiego w Warszawie
Komendant: płk prof. dr hab. n. med. K. Chomiczewski

W pracy przedstawiono współczesne poglądy na zagrożenie terroryzmem z użyciem czynników biologicznych. Omówiono uregulowania prawne umożliwiające przeciwdziałanie bioterroryzmowi obowiązujące w niektórych krajach oraz zasady postępowania w przypadkach ataku bioterrorystycznego. Podkreślono konieczność zorganizowania w Polsce sprawnego systemu obrony przed bronią biologiczną oraz określono zasady, jakim powinien odpowiadać.

Według wielu ekspertów coraz bardziej realna staje się groźba zastosowania broni biologicznej w zamachach terrorystycznych, których podłożem mogą być: nacjonalizm, rasizm, fanatyzm religijny lub cele polityczne. Nie można również pominąć motywów kryminalnych różnych grup przestępczych i działalności psychopatów. Szereg takich przykładów (na szczęście na niewielką skalę) już znamy. Broń biologiczna jest szczególnie atrakcyjna dla terrorystów, gdyż jest ona: łatwa w produkcji, bardzo tania, niezwykle skuteczna, niewidzialna w czasie ataku, łatwa do ukrycia i przenoszenia, niezwykle trudne jest szybkie rozpoznanie przyczyn zachorowalności i zgonów, w okresie wylęgania się choroby objawy są często nietypowe i mylące (3, 7, 11).

Zastosowanie czynników biologicznych w ataku terrorystycznym może nastąpić poprzez rozpylenie aerozolu, skażenie żywności, wody i gleby. Obiektami takiego ataku mogą być wszystkie miejsca, w których gromadzą się ludzie. Należy tu wymienić przede wszystkim: dworce kolejowe, stacje metra, porty lotnicze, centra handlowe, ośrodki zbiorowego żywienia, obiekty sportowe i kulturalne, budynki rządowe i publiczne, szkoły, hotele, miejsca koncentracji wojsk. Szczególnie wdzięcznymi obiektami do przeprowadzenia skutecznego ataku z użyciem aerozoli są miejsca posiadające wydajne systemy klimatyzacyjne (budynki użytku publicznego i stacje metra). Należy liczyć się z tym, że atak terrorystyczny przy użyciu czynników biologicznych oprócz strat wywołanych bezpośrednim działaniem wywołałby ogromną panikę, psychozę społeczną i demoralizację a nawet zachowania agresywne wobec sprawujących władzę (1, 2, 3).

Atak terrorystyczny bronią biologiczną spowodowałby również ogromne straty ekonomiczne. Według wyliczeń ekspertów z Centers for Disease Control and Prevention (CDC) w Atlancie, ogólne koszty związane z zakażeniem 100 000 ludzi laseczką węglika (postać płucna) to 26,2 mld USD, w przypadku tularemii koszt wynosi 5,5 mld USD a w przypadku brucelozы „tylko” 579 mln USD (8).

Aktualnie nie ma możliwości całkowicie skutecznej obrony większych, zwłaszcza przypadkowych zbiorowisk ludzkich przed skutkami użycia broni biologicznej. Szczepionki mogą zapobiegać niektórym chorobom, jednak ten sposób zabezpieczenia jest bezwartościowy, gdy czynnik patogenny nie jest znany odpowiednio wcześniej. Ponadto dla większości potencjalnych patogenów mogących być czynnikami rażenia broni biologicznej szczepionek nie posiadamy. Również podawanie antybiotyków może nie być skuteczne dopóki nie jest zidentyfikowany drobnoustrój i nigdy nie będzie skuteczne, gdy mamy do czynienia ze szczepami antybiotykoopornymi w sposób naturalny bądź otrzymanymi metodami inżynierii genetycznej (3, 5, 10).

Przedstawione fakty wskazują na konieczność nowego i szerokiego spojrzenia na realne zagrożenie bronią biologiczną oraz opracowanie systemu zapobiegającemu użyciu takiej broni, a także procedur najbardziej efektywnego likwidowania skutków jej użycia. Jest to problem ogólnokrajowy i niezbędna jest współpraca wielu resortów w jego realizacji, a koncepcja takich działań powinna być opracowana przez rząd i wsparta stosownymi aktami prawnymi. O potencjalnym zagrożeniu czynnikami biologicznymi powinna być informowana opinia publiczna a odpowiednie organy władzy rządowej i samorządowej powinny posiadać dokładne plany działania w przypadku takiego zagrożenia.

W wielu krajach wprowadza się uregulowania prawne, które umożliwiają organizację skutecznego systemu obrony przed działaniami terrorystycznymi, w tym przed terroryzmem biologicznym. Niestety, do krajów tych nie należy Polska. W naszym kraju nowe uregulowania prawne związane z reformą ustrojową państwa, doprowadziły do całkowitego rozbitcia dotychczasowej zhierarchizowanej struktury inspekcji sanitarnej i weterynaryjnej, wprowadzając strukturę zarządzania poziomego tymi służbami. Uniemożliwi to skuteczne i skoordynowane działania w przypadkach zagrożenia biologicznego.

Najbardziej zaawansowanym krajem w dziedzinie zwalczania bioterroryzmu są Stany Zjednoczone. Już w 1996 roku Kongres USA uchwalił Ustawę Antyterrorystyczną umożliwiającą rządowi federalnemu skuteczne działania w walce z terroryzmem. Pozwoliło to na zorganizowanie sprawnego i skoordynowanego systemu obrony przed bronią biologiczną na szczeblu federalnym oraz stanowym. Opracowano program reagowania w sytuacji użycia broni biologicznej („Biological Warfare Response Program”). Obejmuje on zasadnicze działania pozwalające na skuteczne przeciwdziałanie skutkom użycia tej broni.

Pierwszym i stałym etapem przeciwdziałania jest zorganizowanie i prowadzenie stałego monitoringu epidemiologicznego. W przypadku zaistnienia nietypowych zdarzeń medycznych zostaje uruchomiony drugi etap działań polegający na rozwinięciu monitoringu medycznego, uruchomienie systemu diagnostyki medycznej (zwłaszcza laboratoryjnej), podjęcie dochodzenia epidemiologicznego oraz uruchomienie systemu policyjnych działań śledczych (FBI, policja). Trzecim etapem jest podjęcie zasadniczych decyzji na podstawie danych uzyskanych w poprzednim etapie działań. W przypadku udowodnienia, że doszło do poważnego zagrożenia zdrowia ludności ustala się prawdopodobną przyczynę i stopień tego zagrożenia, zakres działań profilaktycznych i leczniczych oraz podejmuje się decyzje o użyciu awaryjnych sił i środków. W czwartym etapie prowadzi się już działania antykrzysowe polegające na uruchomieniu

centrum dowodzenia, rozwinięciu działań mających na celu ograniczenie szerzenia się zakażeń, hospitalizację, pochówek ofiar, neutralizację środowiska, organizację zaopatrzenia i działań wspierających, zapewnienie funkcjonowania infrastruktury w wypadku masowej absencji oraz działania prewencyjne (4, 7, 9, 12, 13).

W systemie tym współdziałają m.in.: Departament Sprawiedliwości, FBI, Departament Obrony, administracja stanowa, publiczna służba zdrowia. System działa we wszystkich 50 stanach, dystryktie Columbia, miastach New York i Chicago. Prowadzi się systematyczne szkolenie odpowiednich służb, w tym treningi praktyczne. Przykładem wagi, jaką przywiązują władze USA do tego problemu niech będzie fakt wytypowania i standaryzacji ponad 600 laboratoriów mikrobiologicznych przygotowanych do najnowocześniejszej metodyki szybkiego i precyzyjnego wykrywania patogenów oraz przeszkolenie w ciągu ostatnich 3 lat w Instytucie Badawczym Chorób Zakaźnych Armii USA oraz w CDC ponad 42 000 osób przygotowanych do zwalczania skutków bioterroryzmu. Ogólna liczba osób przeszkolonych w tym zakresie przez upoważnione i wyspecjalizowane firmy to ok. 200 000 osób. Poza USA do krajów, w których podejmuje się aktywne działania w zakresie przeciwdziałania bioterroryzmowi należą: Kanada, Wielka Brytania i Francja.

Najskuteczniejszym środkiem obrony przed biologicznymi środkami rażenia zarówno podczas działań wojennych jak i zamachów terrorystycznych jest skuteczne zapobieganie. Na pierwszy plan wysuwa się skuteczne rozpoznanie zamiaru użycia takiej broni, stąd wszyscy eksperci podkreślają ogromną rolę wywiadu i kontrwywiadu. Drugim niezwykle ważnym czynnikiem jest opracowanie i stosowanie bardzo restrykcyjnych aktów prawnych dotyczących kontroli obrotu czynnikami patogennymi.

W Polsce istnieje niewątpliwie pilna potrzeba uwzględnienia problematyki zagrożeń biologicznych w stworzonym systemie reagowania kryzysowego państwa. Niezwykle istotne jest zorganizowanie systemu wykrywania i identyfikacji czynników zagrożenia bronią biologiczną. W systemie tym powinien znajdować się skuteczny nadzór epidemiologiczny (szeroki i sprawny obieg informacji) pozwalający na szybką i rzetelną analizę danych wskazujących na wzrost zachorowalności w określonym rejonie. Drugim elementem systemu powinny być 3–4 osobowe zespoły fachowo przygotowane i dobrze wyposażone („grupy rozpoznania biologicznego”), których zadaniem będzie właściwe pobieranie próbek materiału zakaźnego bądź podejrzanego, właściwe jego zabezpieczenie i przesyłanie do odpowiedniego laboratorium. Te elementy systemu powinny działać w oparciu o terenowe stacje sanitarno-epidemiologiczne. Następnym elementem takiego systemu powinna być sieć laboratoriów (stacje sanitarno-epidemiologiczne, większe laboratoria szpitalne) odpowiednio wyposażonych, zdolnych do szybkiej, wstępnej identyfikacji patogenów oraz laboratorium referencyjne, dysponujące najnowocześniejszymi technikami identyfikacji patogenów. Laboratorium takie powinno odpowiadać poziomowi co najmniej 3. klasy bezpieczeństwa biologicznego (BL 3) i być zdolne do pełnej i precyzyjnej identyfikacji patogenów. Ważnym składnikiem takiego systemu powinno być centrum szkoleniowe (najlepiej zintegrowane z laboratorium referencyjnym), w którym mogłyby się odbywać szkolenia, testowanie sprzętu, opracowywanie procedur i ich standaryzacja, a także opracowywanie materiałów informacyjnych i szkoleniowych. Tak zorganizowany system rozpoznania i identyfikacji patogenów powinien współdziałać z centrami reagowania kryzysowego wojewodów oraz z takim

centrum na szczeblu rządowym. W sprawnym systemie obrony przed bronią biologiczną muszą być uwzględnione siły i środki oraz procedury likwidacji skutków użycia tej broni. Dotyczy to dezaktywacji indywidualnej, zbiorowej oraz środowiska, organizacji pierwszej pomocy dla ofiar, organizacji systemu segregacji i transportu chorych, utrzymania w pogotowiu i możliwości rozwinięcia odpowiedniej bazy szpitalnej, szkolenie personelu medycznego i nie medycznego (straż pożarna, policja, obrona cywilna), zabezpieczenie odpowiedniego zapasu antybiotyków, szczepionek i antytoksyn (2, 6, 10).

Postępowanie w przypadku ataku terrorystycznego czynnikami biologicznymi będzie zależało zawsze od konkretnej sytuacji. Ogólnie można wyodrębnić cztery scenariusze takiego ataku:

- 1) atak zapowiedziany, ale niepewny;
- 2) atak wcześniej zapowiedziany i pewny;
- 3) atak niezapowiedziany, ale szybko wykryty;
- 4) atak niezapowiedziany, późno wykryty (powstały już podejrzanе ogniska zachorowań).

W przypadku pierwszym, gdy wykonanie takiego ataku jest prawdopodobne powinno się podjąć następujące działania:

- 1) uruchomienie centrum koordynującego;
- 2) uruchomienie zespołów rozpoznania biologicznego i monitorowanie zagrożonego obszaru;
- 3) wzmożenie działań wywiadu i kontrwywiadu, zwiększona ochrona granic;
- 4) podwyższenie stanu gotowości zespołów likwidacji skutków użycia broni biologicznej (straż pożarna, obrona cywilna, policja, zespoły transportu sanitarnego, ekipy dezynfekcyjne, przychodnie, wytypowane laboratoria w pełnej gotowości, zabezpieczenie bazy szpitalnej z wydzieleniem stosownej liczby łóżek dla chorych zakaźnych);
- 5) wyposażenie najbardziej narażonego personelu ratowniczego w odpowiednią odzież ochronną i maski ze skutecznymi filtrami;
- 6) w przypadku znanego czynnika zagrażającego (np. z danych wywiadu) podjęcie działań profilaktycznych najbardziej zagrożonych populacji (szczepienia – rewakcynacja, antybiotyki profilaktyczne);
- 7) przygotowanie środków do dekontaminacji i odpowiedniego sprzętu oraz zapasu leków.

W przypadku drugim, gdy wiadomo, że atak taki jest nieuchronny, powinno się podejmować takie same działania, lecz wykonanie ich musi być bardzo szybkie i sprawne – w trybie alarmowym.

W przypadku nagłego, niezapowiedzianego ataku biologicznego, który został jednak szybko wykryty, oprócz podjęcia w trybie alarmowym działań opisanych powyżej należy podjąć następujące działania:

- 1) użycie pasywnych środków ochronnych – maski, stroje ochronne, ewakuacja ludzi z zagrożonych obiektów, zabezpieczenie obiektów, specjalny system filtracji w systemach wentylacji (filtry HEPA);
- 2) szybka i precyzyjna identyfikacja patogenu włącznie z oznaczeniem antybiotykooporności;

- 3) profilaktyka swoista wśród zagrożonej populacji;
- 4) zapobiegawcze stosowanie antybiotyków dla ekip skierowanych w rejon skażeń;
- 5) dekontaminacja ludzi, zaatakowanych obiektów, sprzętu oraz środowiska.

W czwartym przypadku, kiedy mamy do czynienia z atakiem biologicznym wykrytym późno, gdy doszło już do ognisk zachorowań sytuacja się niezwykle komplikuje. Najistotniejszym czynnikiem jest w tych przypadkach również precyzyjna identyfikacja patogenu. Działania w takich przypadkach muszą być zdecydowane, bardzo sprawnie kierowane i koordynowane. Niezbędne jest podjęcie następujących działań:

- 1) wprowadzenie kordonu sanitarnego i wydzielenie stref zakażonych ;
- 2) poddanie kwarantannie ludzi znajdujących się w tych strefach, a w niektórych przypadkach również zwierząt;
- 3) dekontaminacja ludzi, odzieży i sprzętu w strefie zakażonej;
- 4) hospitalizacja chorych z objawami klinicznymi;
- 5) zapewnienie ludności bezpiecznej żywności i wody oraz czystej odzieży;
- 6) dekontaminacja ścieków i odzieży;
- 7) podjęcie działań profilaktycznych w strefach niezakażonych.

Przedstawione tutaj przykładowe scenariusze są oczywiście pewnymi schematami a w praktyce może dochodzić do sytuacji zaskakująco nieprzewidywalnych. Warunkami niezbędnymi (w każdym państwie) do zapewnienia bezpieczeństwa w przypadkach ataków bioterrorystycznych są:

- 1) uświadomienie społeczeństwa o możliwości takiego zdarzenia i wysoka świadomość tego typu zagrożeń wśród osób sprawujących władzę ustawodawczą i administracyjną;
- 2) uregulowania prawne umożliwiające organizację całego systemu obrony przed bronią biologiczną opartego na sprawnym i ściśle skoordynowanym działaniu dobrze wyszkolonych i wyposażonych służb rozpoznania, identyfikacji, przeciwdziałania i likwidacji skutków użycia broni biologicznej.

PIŚMIENNICTWO

1. Bredow J, Myers M, Wagner D, Valdes JJ, Loomis L, Zamani K. Agroterrorism. Agricultural Infrastructure Vulnerability. Ann. NY Acad Sci, 1999; 894: 168 80.
2. Caudle III LC. The Biological Warfare Threat. W: Sidell FR, Takafuji ET, Franz DR, red. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Textbook of Military Medicine. Part I. Office of The Surgeon General US Army, 1997; 451 66.
3. Eitzen EM. Use of Biological Weapons. W: Sidell FR, Takafuji ET, Franz DR, red. Medical Aspects of Chemical and Biological Warfare. Textbook of Military Medicine. Part I. Office of The Surgeon General US Army, 1997; 437 50.
4. Fergusson J R. Biological Weapons and US Law. JAMA 1997; 278: 357 60.
5. Gall W, Grzybowski J. Wybrane zagadnienia dochodzenia epidemiologicznego w przypadkach militarnego lub terrorystycznego ataku biologicznego. W: Chomiczewski K, Grzybowski J, Gall W, red. Epidemiologia działań wojennych i katastrof. ?. Medica Press, 2001 (w druku).
6. Gall W. Pomoc medyczna po ataku biologicznym i premedykacja. W: Chomiczewski K, Grzybowski J, Gall W, red. Epidemiologia działań wojennych i katastrof?. Medica Press, 2001 (w druku).
7. Hoffman RE, Norton JE. Lesson Learned from a Full-Scale Bioterrorism Exercise. Emerg Infect Dis 2000; 6: 652 3.

8. Kaufmann A F, Meltzer MI, Schmid GP. The Economic Impact of a Bioterrorist Attack. *Emerg Infect Dis* 1997; 3: 83-94.
9. Koplan J. CDC's Strategic Plan for Bioterrorism. Proceedings of The Second National Symposium on Medical and Public Health Response to Bioterrorism. Washington, DC, November 28-29, 2000.
10. Medical Management of Biological Casualties. Handbook. US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases, 1998.
11. Simon JD. Biological Terrorism. *JAMA* 1997; 278: 428-30.
12. Terriff CM, Tee AM. Citywide Pharmaceutical Preparation for Bioterrorism *Am J Health Syst Pharm* 2001; 58: 223-33.
13. Tucker JB. National Health and Medical Services Response to Incidents of Chemical and Biological Terrorism. *JAMA* 1997; 278: 362-8.

Adres autora:

Krzysztof Chomiczewski

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

ul. Kozielska 4, 01 163 Warszawa

tel. 838 01 29, fax: 838 10 6 9

e-mail: wihie@wihe.waw.pl

JERZY BZDEGA

WOJSKOWE ZABIEGI SPECJALNE W ZASTOSOWANIU DO LIKWIDACJI ATAKU BIOTERRORYSTYCZNEGO NA SKALĘ MASOWĄ

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

Użycie środków i urządzeń do likwidacji skutków ataku bioterrorystycznego zależy co najmniej od dwóch czynników:

- rozmiaru ataku,
- użytego do ataku środka.

Rozpatrując dotychczasowe ataki terrorystyczne z użyciem broni palnej i materiałów wybuchowych możemy określić rozmiar ataku bioterrorystycznego na:

- incydentalny (skierowany przeciw jednej lub kilku osobom),
- duży (skierowany przeciw około 300 osobom np. wysadzenie samolotu),
- masowy (skierowany przeciw około 1000 osób np. wysadzenie marketu w USA),
- katastrofalny (skierowany przeciw dużej populacji np. aglomeracji miejskiej).

Ilość możliwych do zastosowania w ataku bioterrorystycznym środków biologicznych jest o wiele większa niż w przypadku użycia ich jako bojowych środków biologicznych (bsb) (1, 5, 7, 9). Zastosowanie tych środków w pomieszczeniach zamkniętych jest o wiele bardziej efektywne niż w terenie otwartym. Użycie bsb wymaga wytworzenia z nich aerozolu o takim stężeniu, aby dawka pochłonięta wywołała efekt obezwładniającający lub śmiertelny (8). Wytworzenie drobnodispersyjnego aerozolu biologicznego jest konieczne, bowiem w przeciwieństwie do środków chemicznych, środki biologiczne nie są lotne. Również bsb bardzo rzadko oddziałują na lub przez skórę. Do wyjątków należą m.in. substancje produkowane przez niebiesko-zielone algi (blue-green algal toxins) wywołujące podrażnienie skóry wśród kąpiących się w zanieczyszczonych wodach (7).

Likwidacja skutków ataku bioterrorystycznego polega na przeprowadzeniu zabiegów dezynfekcyjnych w rejonie ataku oraz procedur medycznych i ewentualnie dezynfekcyjnych w stosunku do ludzi. Do tego celu mogą być użyte środki i urządzenia stosowane w wojskowych zabiegach specjalnych (wzs) likwidujących skutki użycia broni masowego rażenia (bmr). Likwidacja skutków użycia bmr jest procesem mającym na celu zapewnienie bezpieczeństwa ludzi, obiektów lub obszaru polegającym na usunięciu pokrywających ich substancji promieniotwórczych (dezaktywacja), absorpcji, zniszczeniu lub usunięciu z nich chemicznych (odkażanie) lub biologicznych substancji skażających (dezynfekcja).

W przeciwieństwie do ataku bioterrorystycznego, który może nastąpić w każdym czasie, w nieznanym miejscu i rozmiarze, atak bronią biologiczną na wojska przeprowadza się na skalę masową – co najmniej na korpus wojska. W czasie działań opera-

cyjnych wojska rozwijają pododdziały rozpoznania skażeń, które określą rodzaj i zasięg terytorialny ataku, umożliwiając przeprowadzenia natychmiastowych zabiegów specjalnych. Likwidację skutków użycia bmr realizuje się na różnych szczeblach organizacyjnych wojska.

– Natychmiastową likwidację skutków realizują żołnierze bezpośrednio po ataku. Proces polega na usunięciu substancji skażających z odkrytych powierzchni skóry, umundurowania, środków ochrony przed skażeniami i broni osobistej za pomocą indywidualnych pakietów przeciwichemicznych lub indywidualnych pakietów radioochronnych (IPP, IPR).

– Likwidacja skażeń w działaniach operacyjnych prowadzona przez pojedynczych żołnierzy lub pododdziały jest ograniczona do części wyposażenia, uzbrojenia, sprzętu i terenu istotnych dla wykonywania działań operacyjnych. Wykorzystuje się do tego etatowe środki i sprzęt będący na wyposażeniu technicznych środków prowadzenia walki (transportery, bojowe wozy piechoty, czołgi).

– Całkowitą likwidację skażeń realizują wyspecjalizowane i szkolone do tego celu pododdziały wojska stosując różnorodne urządzenia i środki do likwidacji skażeń. Urządzenia do likwidacji skażeń to:

- instalacja do likwidacji skażeń,
- instalacja kąpielowa,
- instalacja rozlewcza do likwidacji skażeń,
- instalacja termiczna do likwidacji skażeń,
- instalacja wysokociśnieniowa do likwidacji skażeń,
- instalacja do likwidacji skażeń umundurowania.

Specyfika incydentalnego ataku bioterrorystycznego (może być niezauważony przez osobę zaatakowaną a jego skutki mogą wystąpić nawet po kilku dniach) wyklucza zastosowanie, będących na wyposażeniu wojska, indywidualnych pakietów ochronnych. Do likwidacji dużego ataku bioterrorystycznego wystarczą urządzenia i środki jakimi dysponują służby sanitarne. Wojskowy sprzęt przeznaczony do wsz może być przydatny do likwidacji masowego lub katastrofalnego ataku bioterrorystycznego. Do dezynfekcji skażonego środowiska można zastosować urządzenie ZOd – 2, które służy do odkażania techniki wojskowej i ograniczonego terenu odkażalnikami organicznymi, który można zastąpić dowolnym środkiem dezynfekcyjnym (4). Do dezynfekcji dużych powierzchni można stosować instalacje rozlewcze lub wysokociśnieniowe. Dezynfekcję (dezynsekcję) odzieży i ewentualnie do przeprowadzenia zabiegów sanitarnych na ludziach można zastosować urządzenie dezynfekcyjno – kąpielowe DDA – 2 (3).

Urządzenie DDA – 2 jest zainstalowane na samochodzie przeznaczone do dezynfekcji i dezynsekcji odzieży w warunkach polowych. Proces dezynfekcji przeprowadzany jest metodą parową i parowo – formaldehydową. Zasadniczym elementem urządzenia jest kocioł parowy (wielopaliwowy), dwie komory dzynfekcyjne i urządzenie kąpielowe umieszczone w dostawnym namiocie. Urządzenie jest dostosowane do pracy zarówno zimą jak i latem. Przepustowość urządzenia zależy od szeregu czynników (temperatura wody zasilającej, temperatura powietrza, rodzaj paliwa zastosowanego do opalania kotła, rodzaj dezynfekowanej odzieży itp.) i umożliwia kąpiel w ciągu 1 godziny co najmniej 100 osób z jednoczesną dezynfekcją odzieży. Do kąpeli jednej osoby przewidyje się 30 – 35 l wody o temperaturze 38 – 40°C.

Personel (żołnierze) przeprowadzający dezynfekcję terenu z zastosowaniem dużej ilości środków dezynfekcyjnych lub gdy czynnik biologiczny nie został rozpoznany, powinni pracować w odzieży ochronnej. W wojsku do tego celu używa się maski pgaz i ubrania ochronnego OP – 1 (płaszcz ochronny, rękawice, pończochy, kaptur). Ubranie to jest wykonane z tkaniny izolacyjnej i ubiera się je na mundur lub dres. Po zakończeniu pracy bezpośrednio na żołnierzu przeprowadza się dezynfekcję ubioru ochronnego metodą zraszania. Przeprowadzone w Zakładzie Higieny WIHiE badania wykazały skuteczność dezynfekcji odzieży ochronnej (wykonanej z tkaniny C 35/CM) metodą zraszania powierzchniowego. Ten sam zabieg dezynfekcji umundurowania z tkaniny US – 9 – Pa – 25 (tzw. morro) okazał się nieskuteczny.

Środki dezynfekcyjne przeznaczone do wsz muszą charakteryzować się dużą trwałością w czasie przechowywania (zapasy mobilizacyjne). Są to najczęściej związki fenolowe (lizol, Septyl) oraz zawierające chlor (Chloramina B, Chloramina T, podchloryn sodowy, podchloryn wapniowy). Przy likwidacji ataku bioterrorystycznego środek dezynfekcyjny należy dobrać w zależności od potrzeb.

Zasadniczą przeszkodą w wykorzystaniu środków i sprzętu wyspecjalizowanych pododdziałów wojskowej służby zdrowia przeznaczonych do prowadzenia wsz jest brak uregulowań prawnych. W chwili obecnej wojsko nie bierze udziału w likwidacji katastrof (poza klęskami żywiołowymi). Nie ma też uzasadnienia wojskowego ani ekonomicznego utrzymywania w gotowości pododdziałów służby zdrowia przeznaczonych do prowadzenia wsz. Sprzęt jest zakonserwowany i znajduje się na zapasach mobilizacyjnych, które mogą być uruchomione na specjalne zarządzenie. Wielokrotne doświadczenia prowadzone w WIHiE z użyciem tego sprzętu wykazały, że w bardzo krótkim czasie, rzędu godzin, żołnierze rezerwy powoływani na ten czas na ćwiczenia uruchamiali urządzenia.

Wypada przypomnieć, że w okresach poważnych zagrożeń epidemicznych potrafiąco w Polsce wdrożyć odpowiednie ustawodawstwo i zorganizować kompetentne organy. Dla przykładu: w 1919 r., kiedy zachorowania na dur plamisty miały charakter pandemii, powstał Centralny Komitet do Walki z durem plamistym (CeKaDur).

W 1939 r., w sytuacji wojennego zagrożenia kraju, Minister Opieki Społecznej wydał instrukcję o organizacji ratownictwa sanitarnego w samoobronie przeciwlotniczej i przeciwigazowej, gdzie przewidziano środki jakie powinna posiadać każda rodzina (Tabela I), sposoby finansowania apteczek, programy szkolenia oraz określono zakresy odpowiedzialności (2).

Podobnie, kiedy po przejściu ofensywy 1944/45r. ludności mogły zagrażać niebezpieczeństwa epidemii powołano Naczelny Nadzwyczajny Komitet do Walki z Epidemiami (6). Komitet ten w 1945 r. dysponował na terenie kraju 450 kolumnami przeciw epidemicznymi, 456 stacjonarnymi i 344 mobilnymi komorami dezynfekcyjnymi oraz 28 000 łóżek szpitalnych, przeznaczonych dla chorych na choroby zakaźne.

Zakładając, że środki użyte do ataku bioterrorystycznego są takie same lub zbliżone do bojowych środków biologicznych zacytuje pogląd byłego Naczelnego Epidemiologa WP, członka międzynarodowych komisji ds. zakazu stosowania broni biologicznych, płk prof. dr Zbigniewa Żółtowskiego: „specjalne sposoby i środki obrony przed bronią biologiczną nie są jakością samą w sobie lecz jedynie metodologiczną nadbudową

Tabela I. Przedruk z oryginału załącznika do instrukcji o organizacji ratownictwa sanitarnego z zachowaniem słownictwa (według 2)

Załącznik Nr 2
do instrukcji M.O.S. o organizacji
ratownictwa sanitarnego w samoobronie
przeciwlotniczej i przeciwgazowej Nr W. 1/5-9

ZESTAW
materiału ratowniczo-sanitarnego dla każdego mieszkania

Lp.	Rodzaj materiału	Ilość
1.	Annogen w tabl. po 0,5 g w rurce szklanej	1 rurka
2.	Opatrunków osobistych typu wojskowego	3 szt.
3.	Indywidualnych pakietów przeciwperytowych	3 szt.
4.	Nalewki walerianowej	15 g
5.	Sody oczyszczonej	25 g
6.	Flaszka z bakelitową zakrętką a 50,0	1 szt.
	Poza tym z użytku domowego:	
7.	Nożyczki	
8.	Kawa prawdziwa	

Objaśnienia:

- Zamiast jodyny stosować annogen w roztworze:
1 tabletkę na pełną wyżej wymienioną flaszkę wody, a w razie jej braku na ćwierć szklanki wody (woda może być surowa). Wacików nie wprowadzać do flaszki, lecz polewać je roztworem annogenu.
- Nalewkę walerianową podawać dla dorosłych po 20 kropli na kawałku cukru, względnie w kieliszku wody; dzieciom, zależnie od wieku, podawać tyle kropli, ile dziecko ma lat.
- Sodę oczyszczoną stosować w roztworze: łyżeczkę od herbaty na szklankę ciepłej wody.

zwykłego postępowania zapobiegawczego i przeciwepidemicznego, zwłaszcza przeznaczonego dla kwarantannowych zakażeń powietrzno pochodnych" (10).

PIŚMIENNICTWO

- Alibek K, Handelman S. Biochazard. Hutchinson, London 1999.
Instrukcja o organizacji ratownictwa sanitarnego w samoobronie przeciwlotniczej i przeciwgazowej. Warszawa 1939.
- Instrukcja Urzędnika dezynfekcyjno kąpielowe DDA 2. Warszawa 1977.
- Instrukcja Zestaw odkażający ZO 2. Warszawa 1989.
- Laqueur W. The New Terrorism. Oxford University Press, 1999.

5. Morzycki J, Klingberg AM. Naczelny Nadzwyczajny Komisariat do Walki z Epidemiami w latach 1944-1945. Warszawa 1946.
6. Pietraś J. Metody wykrywania i oznaczania toksyn. Charakterystyka ogólna i możliwości wykrywania. Biuletyn WICHiR. Nr 1(30), 57-63, 2000.
7. Zdżienicki S. Aerosole biologiczne w zarysie. PZWL, Warszawa 1969.
8. Żółtowski Z, Broń CB. Warszawa 1971.
9. Żółtowski Z. Aktualne możliwości i perspektywy w dziedzinie obrony kraju przed biologicznymi środkami masowego rażenia. Warszawa 1968.

Adres autora:

Jerzy Bzdęga

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii

ul. Kozielska 4

Warszawa

JERZY KITA

ZAGROŻENIA ZDROWOTNE CHOROBYMI ODZWIERZĘCYMI PRZENIESIONYMI PRZEZ ZWIERZĘTA LUB MATERIAŁ POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

Katedra Chorób Zakaźnych, Mikrobiologii i Parazytologii
Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW

Musimy sobie uzmysłowić ciągłość w występowaniu chorób zakaźnych dawnych, czyli nawracających lub nowych. Choroby zakaźne towarzyszą ludzkości i zwierzętom od początku świata po dzień dzisiejszy. Historii ludzkości towarzyszyły przecież różne epidemie np. dżuma, trądu, ospy, tyfusu plamistego, cholery, gruźlicy, wąglika i innych. Natomiast choroby zakaźne zwierząt były często przyczyną klęsk głodowych, a nawet upadków potężnych armii. Można więc przyjąć, że po za nielicznymi wyjątkami, zarazki są wspólne dla zwierząt i człowieka.

Zwierzęta pomagały i pomagają nadal przetrwać człowiekowi. Pies jako naturalny myśliwy został udomowiony najprawdopodobniej jako pierwszy ponad 14 tysięcy lat temu. Dziś, pies nadal jest pomocnikiem człowieka – jako pies obronny, przewodnik, ratownik, wykrywacz narkotyków i innych. Owce i kozy udomowione około 9 000 lat w dolinie Nilu, były podstawą utrzymania człowieka, a Żydzi dzięki nim jako społeczeństwo przetrwali.

Hodowla bydła rozwinęła się począwszy od ok. 4 000 lat p.n.e. i stąd została przeniesiona do Europy. Koń, który był podstawą w armiach świata, dziś nadal jest używany w rolnictwie i transporcie w wielu krajach świata, sporcie, a także wykorzystywany w produkcji biopreparatów w ochronie zdrowia człowieka.

Nabyty zespół niedoborów immunologicznych jest jaskrawym przykładem podatności ludzkiego i zwierzęcego organizmu na niekorzystne działanie świata drobnoustrojów jako nowopojawiającej się choroby u ludzi i zwierząt. U zwierząt przykładem może być wirus niedoboru immunologicznego kotów (FIV) czy wirus niedoboru immunologicznego bydła (BIV). AIDS nie jest jedynym przykładem zagrożenia zdrowia końca XX wieku. Masowe zachorowania w USA i w Europie na chorobę legnionisty (*Legionella* sp), syndrom szoku toksycznego (*Staphylococcus aureus*) czy choroba z Lyme były znane przed pojawieniem się AIDS. Inne przykłady nowej epidemii to w Afryce wirus Ebola, który powodował 50% śmiertelności u ludzi zakażonych. Na szczęście nie przeniósł się na inne kontynenty. Ostatnie przykłady zakażeń wirusem grypy – koni, człowieka bezpośrednio od ptaków stanowi nowe zagrożenie. Innym nowym zagrożeniem jest niedawno rozpoznana gąbczasta encefalopatia bydła (BSE).

Świat drobnoustrojów nie czeka biernie na możliwość rozprzestrzenienia się poprzez ludzi czy zwierzęta. Zmienność genetyczna drobnoustrojów uniezależnia je od popula-

cyjnej odporności człowieka lub zwierząt i wywołuje epidemie dawne lub nowe. Dlatego dobrze jest o nich pamiętać aby być lepiej przygotowanym na nowe choroby.

„Nowe” wirusy (lub ich odmiany) mogą pojawiać się niezależnie od ewolucyjnych zmian, jako konsekwencja mechanizmów genetycznych, takich jak mutacja i genetyczne przemieszczenia w obrębie całego segmentu.

Dobrym przykładem może być wirus grypy. W tym przypadku mutacja prowadzi do zmian glikoprotein – antygeny hemaglutyniny, co pozwala mu na pominięcie odporności populacji powstałej po ekspozycji na poprzedni szczep wirusa. Zmiany te odnoszą się do zmienności antygenowej (tzw. dryft) w hemaglutyninie wirusów terenowych, które pojawiają się co roku. Nowy wirus może zatem powodować infekcję również u osobników, którzy uprzednio grype przechorowali.

Natomiast powstanie nowego typu wirusa w wyniku genetycznych przemieszczeń (genetic reassortment) w obrębie całego segmentu, prowadzi do powstania nowego antygeny hemaglutyniny, przeciwko któremu odporność jest niewielka lub zupełnie jej brak. Konsekwencja tych zmian jest wówczas epidemia czy epizootia. Taka zmienność wirusów dotyczy między innymi wirusa niedokrwistości zakaźnej koni, wirusa pryszczycy.

Wracając do tematu referatu należy podkreślić, że obecnie, wobec różnorodnych zagrożeń związanych z przeniesieniem chorób zakaźnych zwierząt, w tym także odzwierzęcych, stosowane są ściśle określone procedury prawne i lekarsko-weterynaryjne.

Ogólne wymagania weterynaryjne dla importu zwierząt i produktów pochodzenia zwierzęcego (towarów) określa ustawa z dnia 24 kwietnia 1997 r. o zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, badaniu zwierząt rzeźnych oraz o Inspekcji Weterynaryjnej, a w szczególności art. 10–17. Generalnie zwierzęta muszą być wolne od chorób zwalczanych z urzędu w Polsce i podejrzenia o zakażenie lub przenoszenie tych chorób. Stwierdzone to jest w świadectwach zdrowia zwierząt lub zdrowotności produktów pochodzenia zwierzęcego, wystawionych przez kompetentne władze weterynaryjne państwa pochodzenia towaru.

Dla towarów pochodzących z państw nie wpisanych do rejestru prowadzonego przez Głównego Lekarza Weterynarii, warunki weterynaryjne importu każdorazowo określa w zezwoleniach Główny Lekarz Weterynarii. Warunki w tym zezwoleniu określone są w zależności od statusu epizootycznego konkretnego państwa, z którego pochodzą towary, w dniu wystawienia zezwolenia przy uwzględnianiu statusu epizootycznego Polski w odniesieniu do konkretnej choroby wskazanej w załączniku do ustawy. Zezwolenia wydawane są dla importu bydła, świń, owiec, kóz i innych zwierząt oraz produktów pochodzenia zwierzęcego, dla których nie zostały określone wzory świadectw zdrowia lub zdrowotności.

Państwa, z których można przywozić towary do Polski bez zezwolenia oraz wzory świadectw określające generalnie weterynaryjne warunki importu zostały wskazane dla:

- drobiu (kur, indyków, perliczek, przepiórek, bażantów) i kuropatw, jaj zapłodnionych tego drobiu i kuropatw (Dz. U. MR i GŹ z 1998 r. nr 6, poz. 10)
- koni przywożonych na okres 90 dni (Dz. U. MR i GŹ z 1998 r. nr 6, poz. 11)
- koni hodowlanych i użytkowych (Dz. U. MR i GŹ z 1998 r. nr 6, poz. 12)
- koni rzeźnych (Dz. U. MR i GŹ z 1998 r. nr 6, poz. 13)

- skór surowych koni, bydła, owiec, kóz i świń (Dz. U. MR i GŻ z 1998 r., nr 5, poz. 7)
- psów i kotów (Dz. U. MR i GŻ z 1998 r. nr 5, poz. 8)
- owiec i kóz rzeźnych (Dz. U. MR i GŻ z 1998 r. nr 5, poz. 9)
- mięsa, środków spożywczych pochodzenia zwierzęcego, niejadalnych surowców zwierzęcych, pasz (M.P. z 2000 r. nr 9, poz. 190 wraz z późniejszymi zmianami).

Poniżej zamieszczono przykłady postępowania diagnostycznego ze zwierzętami pochodzącymi z importu. Do 6 wybranych województw – kujawsko-pomorskiego, mazowieckiego, podlaskiego, wielkopolskiego, warmińsko-mazurskiego, zachodnio-pomorskiego w okresie ostatnich 5 lat importowano z Niemiec, Holandii i Francji bydło w liczbie 8 001.

W trakcie kwarantanny zwierzęta te badano w kierunku gruźlicy (Tbc), enzoptycznej białaczki bydła (EBB), brucelozy, gorączki Q, zakaźnego zapalenia jamy nosowej i tchawicy bydła (IBR), paratuberkulozy i leptospirozy. Dodatkowo wyniki serologiczne stwierdzono: w przypadku gorączki Q u 18 zwierząt; w przypadku IBR u 50; w przypadku paratuberkulozy u 27 i w przypadku leptospirozy u 7.

W tym samym okresie importowano 721 koni z Litwy, Łotwy i Niemiec, które badano w kierunku: niedokrwistości zakaźnej koni (nzk), nosaczyny, zarazy stadniczej wirusowego zapalenia tętnic (wzt), zakaźnego zapalenia macicy (zzm), leptospirozy. Stwierdzono: u jednego konia wirusowe zapalenie tętnic na podstawie badania serologicznego oraz u dwóch wątpliwy odczyn dla nosaczyny w próbie maleinizacji śródskórno-powiekowej.

W przypadku importowanych 700 000 piskląt kurzych i indyjskich na teren woj. podlaskiego z Niemiec, Anglii i Holandii nie stwierdzono żadnych zakażeń. Natomiast w przypadku importu 5500 piskląt z Izraela na teren woj. wielkopolskiego, w trakcie odchowu rozpoznano u nich chorobę Mareka.

Jak wynika z danych sytuacja zdrowotna importowanych zwierząt była stosunkowo dobra. Najwięcej reagentów było w grupie bydła (IBR, gorączka Q, paratuberkuloza i leptospiroza).

Sumaryczne dane nie pozwalają na bardziej szczegółową analizę. Dzięki kwarantannie i przeprowadzonym badaniom zwierzęta te nie trafiły do polskiej hodowli.

PIŚMIENNICTWO

1. Anusz Z. Zapobieganie i zwalczanie zawodowych chorób odzwierzęcych, Wydawnictwo ART. Olsztyn, 1995.
2. Bloom BR, Murray CJ. Tuberculosis: commentary on a reemergent killer. *Science* 1992; 257: 1055.
3. Kilbourne ED. New viral diseases. A real and potential problem without boundaries. *JAMA* 1990; 264: 68.
4. Kita J. O ciągłości chorób zakaźnych czyli dawne i nowe epidemie epizootie. *Medycyna Wet* 1994; 50 (11).
5. Krause RM. The origin of plagues: old and new. *Science* 1992; 257: 1073 8.

6. Ustawa z dnia 24 kwietnia 1997 r. O zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, badaniu zwierząt rzeźnych i mięsa oraz o inspekcji weterynaryjnej.
7. Dane o imporcie zwierząt Wojewódzki/Powiatowy Lekarz Weterynarii.

Adres autora:

Jerzy Kita

Katedra Chorób Zakaźnych, Mikrobiologii i Parazytologii

Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW

Warszawa, Grochowska 272

BOŻENA WINDYGA

PRAWNE, ORGANIZACYJNE I DIAGNOSTYCZNE PODSTAWY NADZORU NAD ŻYWNOŚCIĄ

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Państwowego Zakładu
Higieny

Nadzór nad żywnością, niezależną od producentów urzędową kontrolę sprawują trzy organy administracji rządowej przy pomocy podległych im inspekcji:

- Ministerstwo Zdrowia, któremu podlega:
 - Inspekcja Sanitarna,
- Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, któremu podlegają:
 - Inspekcja Weterynaryjna,
 - Inspekcja Skupu i Przetwórstwa Artykułów Rolnych,
 - Centralny Inspektorat Standaryzacji,
 - Inspekcja Ochrony Roślin,
 - Inspekcja Nasienna,
- Urząd Ochrony Konkurencji i Konsumentów, któremu podlega:
 - Inspekcja Handlowa.

Termin „nadzór” jest używany dla określenia sytuacji, w której organ nadzorujący jest wyposażony w środki oddziaływania na postępowanie podmiotów nadzorowanych, nie może jednak wyręczać tych podmiotów w ich działalności. Uprawnienia nadzoru oznaczają prawo do kontroli wraz z możliwością wiążącego wpływania na nadzorowane jednostki. Uprawnienia organu nadzoru są określone przepisami odnośnie zakresu działania jak i formy administracyjnej.

Nadzór nad jakością zdrowotną żywności spoczywa na Inspekcji Sanitarnej i Inspekcji Weterynaryjnej w zakresie ustalonym w ustawie o warunkach zdrowotnych żywności i żywienia, która jest podstawowym i najważniejszym aktem prawnym polskiego „prawa żywnościowego”.

W polskim prawie zagadnienia jakości zdrowotnej i kwestie higieny regulują zarówno normy przedmiotowe jak i szczegółowe rozporządzenia resortowe dotyczące dopuszczalnych ilości substancji dodatkowych, substancji obcych dodawanych do środków spożywczych i używek a także zanieczyszczeń, ogólnych wymagań sanitarnych oraz zasad przestrzegania higieny przy produkcji i obrocie, warunków produkcji i wprowadzania do obrotu dietetycznych środków spożywczych, zagadnień higieny wymaganych od osób biorących udział w produkcji lub obrocie środkami spożywczymi, warunków weterynaryjnych wymaganych przy uboju zwierząt rzeźnych, rozbiórce i składowaniu, przetwórstwie mięsa, składowaniu przetworów mięsnych, badania zwierząt rzeźnych,

oceny i znakowania mięsa, wykorzystania mięsa o ograniczonej przydatności lub niezdatnego do spożycia.

Począwszy od 1994 r. wszystkie wydawane polskie akty prawne są sprawdzane pod kątem ich zgodności z prawem europejskim i dostosowywane do wymagań Unii Europejskiej.

Dotyczy to zarówno ustaw państwowych, rozporządzeń i zarządzeń resortowych, jak również polskich norm, które są harmonizowane z normami bądź innymi dokumentami unijnymi. W 1995 r. szczyt Rady Europy przyjął opracowaną przez Komisję Europejską „Białą Księgę w sprawie integracji stowarzyszonych krajów Europy Środkowej i Wschodniej z rynkiem wewnętrznym UE” zawierającą m. in. zalecenia harmonizacji norm krajowych z europejskimi.

Aktualnie w sejmie, w ostatnim stadium prac, znajdują się nowelizowane ustawy „żywnościowa” i „weterynaryjna”, których zadaniem jest implementacja unijnych przepisów żywnościowych do krajowego ustawodawstwa. Zgodnie z oficjalnymi deklaracjami rządu do końca 2002 roku polskie prawo żywnościowe będzie całkowicie dostosowane do wymagań UE.

Adres autora:

Bożena Windyga

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Państwowego Zakładu Higieny
ul. Chocimska 24, 07 91 Warszawa

JAN SZYMBORSKI

ZASADY NADZORU NAD IMPORTEM ZWIERZĄT I PRODUKTAMI POCHODZENIA ZWIERZĘCEGO

Główny Inspektorat Weterynarii

Kontrola weterynaryjna importu zwierząt i produktów pochodzenia zwierzęcego ma na celu ochronę zdrowia ludzi i zwierząt a także uwzględnia procedury pozwalające na czynne uczestnictwo w międzynarodowym handlu tymi towarami. Podstawowym aktem prawnym nakreślającym zasady tego nadzoru jest rozdział 3 (Zapobieganie przenoszeniu z zagranicy i za granicę chorób zakaźnych zwierząt) ustawy z dnia 24 kwietnia 1997 r. o zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt, badaniu zwierząt rzeźnych i mięsa oraz o Inspekcji Weterynaryjnej (Dz. U. Nr 66, poz. 752).

Art. 10 tej ustawy zabrania przywozu:

- zwierząt chorych, podejrzanych o zakażenie, zwłok zwierzęcych i ich części oraz innych rzeczy, które mogą przenosić chorobę zakaźną,
- mięsa mechanicznie odkostnionego, mięsa niezdatnego lub o ograniczonej przydatności do spożycia,
- mięsa przez inne przejścia, niż wyznaczone w trybie art. 14 ust 6 (określone przez Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej).

Import zwierząt i produktów pochodzenia zwierzęcego reguluje art. 11 tej ustawy i wymaga się:

- świadectw zdrowia wystawionych przez urzędowego lekarza weterynarii kraju pochodzenia,
- pochodzenia z państw (a w przypadku środków spożywczych także z zakładów) wpisanych do rejestru prowadzonego przez Głównego Lekarza Weterynarii,
- uzyskania przez importera decyzji powiatowego lekarza weterynarii o ustaleniu miejsca kwarantanny, uboju lub składowania.

W świetle tych wymagań, zgodnie z art. 11 ust. 5, Główny Lekarz Weterynarii ogłasza rejestr państw i zakładów uprawnionych do eksportu do Polski środków spożywczych i środków żywienia zwierząt a także wzory świadectw zdrowia na poszczególne towary.

Zgodnie z art. 14 ust. 7 ogłoszono w Dzienniku Urzędowym Ministerstwa Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej wykaz towarów podlegających weterynaryjnej kontroli granicznej, która obejmuje:

- sprawdzenie czy przedstawione do kontroli towary nie podlegają zakazowi na mocy art. 10,
- sprawdzenie świadectw zdrowia (formalnie i merytorycznie),
- oględziny towaru, a w razie potrzeby jego badanie.

Na mocy art. 14 ust. 4 graniczny lekarz weterynarii zakazuje wprowadzania na terytorium kraju towarów, które nie spełniają wymagań wyżej wymienionych artykułów 10 i 11.

Procedury granicznej kontroli weterynaryjnej są zgodne z postanowieniami Dyrektywy Rady 96/675 i mają na celu:

- ustalenie miejsca pochodzenia i przeznaczenia,
- wyegzekwowanie gwarancji weterynaryjnych co do bezpieczeństwa towaru,
- sprawdzenie zgodności przesyłek z towarzyszącymi dokumentami,
- sprawdzenie warunków przewozu, określonych w świadectwach zdrowia.

Podobnie jak w Unii Europejskiej świadectwa zdrowia, poza danymi identyfikującymi towar, zawierają uwarunkowania odnoszące się do stanu epizootycznego kraju pochodzenia i zdrowia zwierząt (animal health) a także gwarancje co do bezpieczeństwa konsumentów (public health).

Zasadniczą rolę w handlu zwierzętami i artykułami pochodzenia zwierzęcego odgrywają świadectwa zdrowia.

Zasady certyfikacji ujęte są w Dyrektywie Rady 96/93 z 17 grudnia 1996 r. o certyfikacji zwierząt i produktów pochodzenia zwierzęcego. Przestrzeganie tych zasad stanowi podstawę handlu opierającą się na wzajemnym zaufaniu. Służba weterynaryjna kraju importującego w oparciu o własne procedury kontrolne określa stopień zaufania w stosunku do państw eksportujących i od tego uzależnia natężenie nadzoru nad importem.

Zasady tej dyrektywy znalazły odzwierciedlenie w art. 41a projektu nowej „ustawy weterynaryjnej”, która znajduje się w Sejmie i być może już w niedługim czasie zostanie uchwalona. Procedury granicznej kontroli weterynaryjnej szczegółowo określa art. 14 tego projektu.

Po dokonaniu weterynaryjnej kontroli granicznej, przywiezione towary podlegają badaniom w miejscach wyznaczonych decyzjami powiatowych lekarzy weterynarii, którzy w zależności od wyników badań :

- dopuszczają towar do obrotu w kraju
- nakazują wywóz towaru za granicę,
- nakazują zniszczenie towaru, zabicie zwierzęcia lub ubój sanitarny.

W obecnej sytuacji epizootycznej, głównie w Europie Zachodniej szczególnie ważnym instrumentem są postanowienia art. 16 dające ministrowi właściwemu do spraw rolnictwa możliwość wydawania rozporządzeń zakazujących przywozu i przewozu towarów mających przenosić chorobę zakaźną a także określających postępowanie organów weterynaryjnej kontroli granicznej w stosunku do osób przybywających z zagranicą oraz ich rzeczy.

Dobitnym przykładem tych działań są wprowadzane ostatnio prawne działania zmierzające do zabezpieczenia naszego kraju przez BSE i pryszczycą, a wcześniej przed importem żywności skażonej dioksynami.

Przedstawiony system nadzoru weterynaryjnego nad importem zwierząt i produktów pochodzenia zwierzęcego spełnia swoją rolę, o czym świadczy fakt, że mimo występującego od lat klasycznego pomoru świń w landach niemieckich sąsiadujących z Polską, choroba ta w naszym kraju nie występuje. Nie stwierdzono także zachorowań związanych ze stwierdzeniem dioksyn w żywności. Nadzór nad importem jest i musi

być elastyczny, pozwala to bowiem na szybkie reagowanie adekwatne do zagrożeń dla zdrowia ludzi i zwierząt, które występują w krajach eksportujących.

W związku ze staraniami wstąpienia do Unii Europejskiej graniczna kontrola weterynaryjna skoncentrowana będzie głównie na granicy wschodniej co oznacza, że musi być ona prowadzona zgodnie z przepisami unijnymi, a rozwiązania takie przewidziane są w nowej „ustawie weterynaryjnej”.

Adres autora:
Jan Szymborski
Główny Inspektorat Weterynarii
ul. Wspólna 30
00 9 30 Warszawa