

Kwartalnik  
**Tom 45**

**Suplement 1 • 2006**

CODEN:  
PMKMAV 45 (1)  
2006

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW

# Postępy Mikrobiologii

Advances in Microbiology

## RADA REDAKCYJNA

JACEK BIELECKI (Uniwersytet Warszawski), MIECZYŚLAW K. BŁASZCZYK (Uniwersytet Rzeszowski),  
RYSZARD CHRÓST (Uniwersytet Warszawski), JERZY DŁUGOŃSKI (Uniwersytet Łódzki),  
DANUTA DZIERŻANOWSKA (Centrum Zdrowia Dziecka), EUGENIA GOSPODAREK (Akademia Medyczna w Bydgoszczy),  
JERZY HREBENDA (Uniwersytet Warszawski), WALERIA HRYNIEWICZ (Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego),  
MAREK JAKÓBISIAK (Akademia Medyczna w Warszawie), MIROŚLAW KAŃTOCH (Państwowy Zakład Higieny),  
ANDRZEJ PASZEWSKI (Instytut Biochemii i Biofizyki PAN), ANDRZEJ PIEKAROWICZ (Uniwersytet Warszawski),  
ANTONI RÓŻALSKI (Uniwersytet Łódzki), BOHDAN STAROŚCIAK (Akademia Medyczna w Warszawie),  
BOGUSŁAW SZEWCZYK (Uniwersytet Gdański), ELŻBIETA TRAFNY (Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii),  
STANISŁAWA TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA (Państwowy Zakład Higieny),  
GRZEGORZ WĘGRZYN (Uniwersytet Gdański), PIOTR ZIELENKIEWICZ (Uniwersytet Warszawski)

## REDAKCJA

JERZY HREBENDA (redaktor naczelny), JACEK BIELECKI (zastępca),  
BOHDAN STAROŚCIAK (sekretarz)

### Adresy redakcji

#### Redaktorzy:

Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski  
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, tel. (0 22) 554 13 05/304, fax (0 22) 554 14 04  
e-mail: j.hrebenda@biol.uw.edu.pl; jbielecki@biol.uw.edu.pl

#### Sekretarz

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Akademia Medyczna  
ul. Ocзки 3 (parter), 02-007 Warszawa, tel. (0 22) 628 08 22, (0 22) 621 13 51  
e-mail: bjstaros@amwaw.edu.pl

## CZASOPISMO WYDAWANE Z FINANSOWĄ POMOCĄ KOMITETU BADAŃ NAUKOWYCH

Index Copernicus 3,41 (2005); Pismo indeksowane w EMBASE/Excerpta Medica

*Na okładce: Listeria monocytogenes na włóknach naprężeniowych komórek nabłonkowych linii Int 407. SEM LEO, powiększenie 8500× (fot. Jarosław Wiśniewski – Instytut Mikrobiologii i Magda Sobolewska – Pracownia Mikroskopii Elektronowej, Wydział Biologii UW)*

*Projekt okładki: Jerzy Grzegorkiewicz*

P O L S K I E T O W A R Z Y S T W O M I K R O B I O L O G Ó W

Nakład 1150 + 15 egz., Objętość 7,5 arkuszy wyd., Papier offser 80 g

#### Skład i druk:

Zakład Wydawniczy *Letter Quality*, 01-216 Warszawa, Bryłowska 35/38,  
tel. 0 22 631 45 18, 0 607 217 879.

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW  
POLSKIE TOWARZYSTWO NAUK WETERYNARYJNYCH

*Patronat:*

GŁÓWNY INSPEKTOR SANITARNY  
GŁÓWNY LEKARZ WETERYNARII

**SYMPOZJUM NAUKOWE**  
**„Zoonozy – aktualne zagrożenia”**

24 – 25 marca 2006 r.

SZKOŁA GŁÓWNA GOSPODARSTWA WIEJSKIEGO  
WARSZAWA

*Redakcja suplementu:*

STANISŁAWA TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA

### **Komitet Honorowy Sympozjum**

**Prof. dr hab. Marian Truszczyński – Przewodniczący Komitetu Honorowego**

Andrzej Trybusz – Główny Inspektor Sanitarny

Krzysztof Jażdżewski – Główny Lekarz Weterynarii

Prof. dr hab. Tomasz Borecki – Rektor Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego

Prof. dr hab. Zbigniew Fijałek – Dyrektor Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego

Prof. dr hab. Marek Niemiałtowski – Przewodniczący Komitetu Mikrobiologii PAN

Doc. dr hab. Tadeusz Wijaszka – Dyrektor Państwowego Instytutu Weterynaryjnego

### **Komitet Naukowy Sympozjum**

**Przewodniczący:**

**Prof. dr hab. Waleria Hryniewicz**

**Prof. dr hab. Włodzimierz Kluciński**

Prof. dr hab. Marian Binek

Prof. dr hab. Janusz Cianciara

Prof. dr hab. Stefania Giedrys-Kalemba

Dr Andrzej Horban

Prof. dr hab. Jerzy Kita

Prof. dr hab. Anna Przondo-Mordarska

Prof. dr hab. Stanisława Tylewska-Wierzbanowska

Prof. dr hab. Andrzej Zieliński

### **Komitet Organizacyjny Sympozjum**

Prof. dr hab. Waleria Hryniewicz

Prof. dr hab. Włodzimierz Kluciński

Skarbnik: Dr Jarosław Kaba

Prof. dr hab. Marian Binek

Prof. dr hab. Stanisława Tylewska-Wierzbanowska

Dr Borys Błaszczak

Dr Magdalena Kizerwetter-Świda

Mgr Beata Mazińska

Dr Magdalena Rzewuska

Dr Elżbieta Stafaniuk

# PROGRAM NAUKOWY SYMPOZJUM „ZOOZONY – AKTUALNE ZAGROŻENIA”

24–25 marca 2006 r. Warszawa

24.03.2006

*Prof. dr hab. Waleria Hryniewicz* – Prezes Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów

*Prof. dr hab. Włodzimierz Kluciński* – Prezes Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynarii

*Prof. dr hab. Marian Truszczyński* – Przewodniczący Komitetu Honorowego

Wykład inauguracyjny – Interakcja człowiek – zwierzęta. *Prof. dr hab. Stanisława Tylewska-Wierzbanowska*  
Zwierzęta jako rezerwuary lekoopornych bakterii. *Prof. dr hab. Waleria Hryniewicz*

## Sesja I. Zagrożenia układu nerwowego

**Prowadzą:** *Prof. dr hab. Teresa Hermanowska-Szapakowicz*

*Prof. dr hab. Marek Niemiałowski*

Arbowirusowe zapalenie mózgu. *Doc. dr hab. Włodzimierz Gut*

Zagrożenie zdrowia człowieka wirusem wścieklizny. *Prof. dr hab. Jan F. Żmudziński*

Problem zagrożenia wariantem choroby Creutzfeldta-Jakoba. *Prof. dr hab. Jerzy Kulczyński*

Dyskusja

## Sesja plakatowa

**Prowadzą:** *Prof. dr hab. Stefania Giedrys-Kalemba*

*Prof. dr hab. Marian Binek*

## Sesja II. Zakażenia przenoszone drogą pokarmową

**Prowadzą:** *Doc. dr hab. Elżbieta Trafny*

*Prof. dr hab. Zygmunt Pejsak*

Oddziaływanie *Campylobacter jejuni* z komórkami eukariotycznymi – komensalizm a wirulencja.

*Prof. dr hab. Elżbieta Katarzyna Jagusztyn-Krynicka*

Zakażenia pałeczkami *Salmonella* u ludzi i zwierząt. *Prof. dr hab. Marian Binek*

*Leptospira* spp. jako potencjalny patogen człowieka. *Prof. dr hab. Zygmunt Pejsak*

Shigatoksyczne *Escherichia coli* oraz *Listeria monocytogenes* – występowanie u zwierząt a zagrożenie zdrowia człowieka.

*Prof. dr hab. Jacek Osek*

Dyskusja

25.03.2006

## Sesja III. Zakażenia dróg oddechowych

**Prowadzą:** *Prof. dr hab. Andrzej Szkaradkiewicz*

*Prof. dr hab. Andrzej Siwicki*

Współczesne zagrożenie wziewnymi zakażeniami wirusowymi. *Prof. dr hab. Tadeusz Plusa*

Gorączka Q w Polsce – pomijane zagrożenie. *Prof. dr hab. Józef Knap*

Zoonotyczne aspekty ptasiej grypy. *Prof. dr hab. Alżbieta Samorek-Salamonowicz*

Dyskusja

## Sesja IV. Zakażenia przenoszone przez wektor

**Prowadzą:** *Prof. dr hab. Józef Knap*

*Prof. dr hab. Piotr Zaborowski*

Borelioza – narastający problem epidemiologiczny. *Prof. dr hab. Beata Marchewka-Mizak, Dr Joanna Król*

Stare i nowe riketsjozy. *Dr Tomasz Chmielewski*

Czy malaria pozostanie zawlekaną chorobą tropikalną? *Prof. dr hab. Piotr Zaborowski*

Dyskusja

## Sesja V. Szczepienia u zwierząt i ludzi.

**Prowadzą:** *Prof. dr hab. Waleria Hryniewicz*

*Prof. dr hab. Jerzy Kita*

Szczepienia zwierząt przeciwko wybranym chorobom zagrażającym człowiekowi. *Prof. dr hab. Jerzy Kita*

Zoonozy – immunoprofilaktyka u ludzi. *Dr Paweł Grzesiowski*

Dyskusja i zakończenie symozjum

Oddajemy do rąk Państwa dodatkowy, specjalny numer *Postępów Mikrobiologii*, który zawiera materiały z sympozjum nt.: „Zoonozy – aktualne zagrożenia”, zorganizowanego wspólnie przez Polskie Towarzystwo Mikrobiologów i Polskie Towarzystwo Nauk Weterynaryjnych.

Sympozjum to odbyło się w dniach 24–25 marca 2006 pod patronatem Głównego Inspektora Sanitarnego i Głównego Lekarza Weterynarii.

Zoonozy stanowią coraz poważniejszy i narastający problem medycyny ludzkiej i weterynaryjnej na całym świecie i dotyczą zakażeń przenoszonych zarówno od dzikich zwierząt jak i zwierząt domowych. Szereg z nich należy do grupy tzw. nowopojawiających się zagrożeń zakaźnych (emerging), a niektóre stanowią broń bioterrorystyczną.

Tematyka Sympozjum objęła jedynie wybrane zagadnienia. Dokonują wyboru, zdecydowaliśmy się przedstawić te, z którymi szczególnie często mamy do czynienia w Polsce, bądź tak jak grypa ptasia lub bioterroryzm stanowią zagrożenia globalne. Wszyscy uczestnicy podkreślali potrzebę dalszych tego typu spotkań oraz współpracy obu środowisk naukowych wraz z inspekcją sanitarną i weterynaryjną. Zwracano uwagę na konieczność objęcia stałym monitorowaniem najważniejszych zoonoz oraz stosowania nowych metod epidemiologicznych i mikrobiologicznych, w tym molekularnych metod identyfikacji zagrożeń i ich rozprzestrzeniania się. Tematyka ta jest jednym z priorytetów działania Komisji Europejskiej w zakresie zdrowia publicznego. Uczestnicy Sympozjum wnioskowali o utworzenie grupy roboczej ds. zoonoz i dalszych działań propagujących tę tematykę zarówno wśród naukowców jak i praktyków, a także całego społeczeństwa.

Przedstawiany zeszyt zawiera wprawdzie jedynie wybrane prezentacje, ale mamy nadzieję, że pozwoli to na uwidocznienie problemu jaki stanowią zoonozy (wszystkie prace były recenzowane przez specjalistów).

*Waleria Hryniewicz*

Stanisława Tylewska-Wierzbanowska

Samodzielna Pracownia Riketsji, Chlamydii i Krętków Odzwierzęcych,  
Państwowy Zakład Higieny, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa, tel. 0 22 542 12 50, e-mail: stylewska@pzh.gov.pl

### Human-animal interaction

*Abstract:* Man has been always closely related to his environment and animals living in his surrounding. For ages role of animals has been changed from source of food and clothing, through transportation and protection to profound relationships which cater various human needs such as psychological, therapeutic, educational. Common man's contacts with animals may result in infections transmission from them and development of zoonoses.

**Słowa kluczowe:** interakcja człowiek-zwierzęta, zoonozy, zakażenia odzwierzęce

**Key words:** human-animal relationship, zoonosis

Organizmy żywe, także człowiek, nie występują w izolacji, ale żyjąc w określonym środowisku zajmują właściwe dla siebie miejsce w „wielkim kręgu życia”.

Owym kręgiem jest ekosystem, a właściwym dla danego organizmu miejscem jest jego nisza ekologiczna.

Pomiędzy populacjami różnych gatunków zachodzą związki ponieważ wszystkie one zależą od tych samych warunków, które panują na danym terenie. Ponadto, obecność każdej z nich jest specyficznym warunkiem zewnętrznym dla pozostałych.

Wszystkie populacje w biocenozie oddziałują na siebie wzajemnie, a także wpływają na środowisko, w którym występują. Poszczególne organizmy rywalizują między sobą o przestrzeń życiową, tj. o pokarm, wodę, światło, itp.

Interakcja człowiek-zwierzęta i łączące je więzi są po części wynikiem praw rządzących w przyrodzie, które regulują prawidłową egzystencję danego ekosystemu – biocenozy i biotopu, a w części reguł stworzonych przez człowieka.

Jeżeli istnieją stałe, dwukierunkowe oddziaływania pomiędzy człowiekiem i zwierzętami, które przynoszą znaczące korzyści każdemu z nich, a także wtedy kiedy są one dobrowolne, niewymuszone i każda strona traktuje drugą jako przedmiot zaufania, przywiązania, podziwu lub miłości można mówić o więzi łączącej człowieka ze zwierzętami i zwierzęta z człowiekiem [10].

Związki człowieka ze zwierzętami istnieją, od tysięcy lat, od początku istnienia gatunku *Homo sapiens*. Zwierzęta dla człowieka były źródłem pokarmu i okrycia chroniącego przed nieprzyjawnymi warunkami atmosferycznymi, środkiem transportu i siłą pociągową, stróżem i obrońcą, a także współtowarzyszem.

Rozwój cywilizacji, społeczeństw i grup społecznych prowadził do zmian w relacjach człowiek-zwierzęta. Zwierzęta stały się wyznacznikiem bogactwa i statusu społecznego, środkiem płatniczym w handlu wymiennym.

Wielokrotnie zwierzęta były postrzegane jako symbole religijne i obyczajowe [6]. Znalazło to bardzo piękne odbicie w malarstwie – człowiekowi, w różnych sytuacjach życiowych, towarzyszą zwierzęta. Przykładem może być pies, który zawsze był uosobieniem wiernego przyjaciela jak również więzi rodzinnych i wierności małżeńskiej. Jedynym wyjątkiem jest psychoanalityczna interpretacja Junga gdzie pies może symbolizować związki pozamałżeńskie [5]. Symbolika związana ze zwierzętami, podlegała i podlega ciągłym zmianom. Dla ludzi doby starożytnej i pierwszych chrześcijan paw oznaczał wieczność. Dla ludzi Średniowiecza był on symbolem ogniska domowego. Później uosabiał pecha. Dzisiaj symbolizuje pychę.

Wraz ze zmianami cywilizacyjnymi relacje pomiędzy zwierzętami i człowiekiem zmieniały się, ale łączące je więzi pozostały nienaruszone. W różnych regionach geograficznych i kulturowych zwierzęta zaspakają podobne potrzeby człowieka.

Przejście od sektora rolniczego do sektora przemysłowego, a zwłaszcza, do trzeciego sektora – post-industrialnego, w którym szczególnego znaczenia nabierają instytucje związane z ochroną zdrowia (profilaktyką i leczeniem), przyniosło nowe spojrzenie na korzyści płynące z kontaktów ze zwierzętami.

We współczesnym świecie, w krajach cywilizowanych zwraca się uwagę na rolę zwierząt towarzyszących człowiekowi, w utrzymaniu zdrowia i dobrego samopoczucia. Stwierdzono, że towarzystwo zwierząt może dawać właścicielowi poczucie siły, zaspakajając jego potrzebę miłości jak również stwarzać okazję do ćwiczeń fizycznych i rekreacji [2, 3].

Tabela I  
Czynniki ryzyka zachorowania

- |   |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>– Środowisko i intensywność kontaktów człowieka ze zwierzętami</li> <li>– Warunki socjoekonomiczne</li> <li>– Religijne i kulturowe zwyczaje</li> <li>– Wędrowniki zwierząt i ludzi</li> <li>– Klimat i anomalie pogodowe</li> <li>– Zawodowy kontakt ze zwierzętami lub odpadami</li> </ul> |
|---|

Prowadzone badania wykazały, że właściciele zwierząt domowych rzadziej skarżą się na różne dolegliwości, jak np. bóle głowy, bezsenność, bóle stawów, itp. jak również stwierdza się u nich, np. niższe poziomy wskaźników ryzyka choroby wieńcowej [7]. Zależności pomiędzy więzami łączącymi człowieka ze zwierzętami i jego dobrym zdrowiem są znane i stanowią ważny problem w badaniach epidemiologicznych. Jednak mechanizmy tych zależności nie są w pełni poznane. Pozytywny wpływ ich jest jednak tak znaczący, że obecnie zwraca się uwagę na konieczność uwzględnienia jako elementu ekspozycji w badaniach zdrowia populacji ludzkiej, kontaktów ze zwierzętami. Element ten może mieć podobne znaczenie jak inne znane czynniki, jak np. aktywność fizyczna, nadciśnienie, czy stres.

Uważa się, że w niektórych chorobach i stanach przewlekłej niewydolności, skuteczna jest terapia wspomagana przez zwierzęta domowe. Są one uzupełnieniem a nawet alternatywą w leczeniu niektórych chorób.

Bardzo ważną rolę spełniają zwierzęta w terapii ludzi starszych. Stwierdzono, że wprowadzone do domów opieki dla ludzi starszych zwierzęta-rezydenci bardzo efektywnie spełniają rolę mediatorów ułatwiających porozumienie się w grupie oraz jako środek poprawiający nastrój [8, 9]. Podobnie bardzo pozytywnie oceniana jest hipoterapia stosowana u dzieci niepełnosprawnych, jak np. dzieci z porażeniem mózgowo-rdzeniowym.

Nie sposób tu wymienić wszystkie funkcje terapeutyczne i wspomagające zwierząt, ale warto wspomnieć o znaczeniu jakie mają one dla takich ludzi, jak niewidomi, głusi, inwalidzi poruszający się na wózkach, czy psy – opiekunowie chorych na epilepsję lub cukrzycę. Wykazano, że towarzystwo tych zwierząt nie tylko pomaga w codziennym życiu ale wpływa również pozytywnie na samopoczucie psychiczne i lepszą samoocenę ich właścicieli [1].

Obok tych wielu pozytywnych oddziaływań wynikających z bliskich kontaktów człowieka ze zwierzętami występują również negatywne tego następstwa w postaci chorób odzwierzęcych. Bliskie kontakty ze zwierzętami mogą prowadzić do przeniesienia różnych chorób – bakteryjnych, pasożytniczych, grzybiczych czy wirusowych. Według oceny Światowej Organizacji Zdrowia około 200 różnych zakażeń pochodze-

nia odzwierzęcego może być przeniesionych na człowieka prowadząc u niego do zachorowania, nawet zagrożającego życia.

Analiza czynników ryzyka zachorowania wykazuje, że zachowanie się ludzi, ich obyczaje oraz warunki socjoekonomiczne są równie ważne jak biologiczne czynniki ryzyka, pochodzące od samych zwierząt.

W krajach nieuprzemysłowionych szerzeniu się chorób odzwierzęcych sprzyjają złe warunki sanitarne i brak właściwych zasad higieny. Występujące w takich rejonach katastrofy – zarówno naturalne (powódzie, trzęsienia ziemi) jak i wywołane przez człowieka, spowodowane niepokojami społecznymi i wojnami, mogą zwiększyć wielokrotnie wystąpienie tych chorób, często w formie epidemii.

Czynniki będące następstwem procesów globalizacyjnych, jak intensywna hodowla zwierząt na skalę przemysłową, zcentralizowana produkcja i dystrybucja żywności w krajach uprzemysłowionych mogą być również przyczyną masowego wystąpienia chorób odzwierzęcych [4]. Zmieniające się obyczaje, mody i kierunki kulturowe są czynnikami modyfikującymi przebieg tych chorób w społeczeństwie. Aktywny wypoczynek, sporty ekstremalne są nowymi czynnikami zwiększonego ryzyka zachorowania [11].

Tak jak wtargnięcie człowieka w głąb Puszczy Amazońskiej podczas budowy Kanału Panamskiego, spowodowało wśród budowniczych epidemii dotychczas nieznaną w tym rejonie żółtej gorączki tak podobne zjawiska obserwuje się w związku z rozwojem przedmieść (pierwsze rozpoznane przypadki choroby z Lyme w 1976 roku w USA).

Dodatkowym czynnikiem zwiększającym ryzyko wystąpienia chorób odzwierzęcych w każdym rejonie

Tabela II  
Czynniki sprzyjające szerzeniu się chorób odzwierzęcych

Sektor rolniczy:	<ul style="list-style-type: none"> <li>– wspólne ze zwierzętami otoczenie przydomowe</li> <li>– swobodne przemieszczanie się zwierząt</li> <li>– ograniczony dostęp do opieki medycznej i weterynaryjnej</li> <li>– niski poziom wykształcenia</li> <li>– złe warunki sanitarne i higieniczne</li> <li>– katastrofy naturalne (powódzie, trzęsienia ziemi itp.)</li> <li>– niepokoje społeczne</li> </ul>
Sektor przemysłowy:	<ul style="list-style-type: none"> <li>– aktywny wypoczynek (obozowanie, polowania)</li> <li>– zwierzęta domowe (psy, koty, egzotyczne ptaki, gryzonie)</li> <li>– niska higiena osobista</li> <li>– rozwój przedmieść naruszający środowisko naturalne zwierząt</li> <li>– intensywna produkcja zwierzęca</li> <li>– globalizacja produkcji i dystrybucji żywności</li> </ul>

Tabela III

Zooantroponozy – zakażenia przenoszone z człowieka na zwierzęta

Czynnik etiologiczny / choroba człowieka	Choroba zwierząt / zwierzę
Wirus świnki / świnka <i>C. diphtheriae</i> / błonica <i>S. pyogenes</i> / angina, szkarlatyna <i>S. aureus</i> / czyraczność <i>M. tuberculosis</i> / gruźlica	zapalenie ślinianek / pies owrzodzenie sutków, zapalenie wymion / bydło zapalenie wymion / bydło czyraczność, zapalenie wymion / bydło gruźlica / jelenie, psy, słonie

świata jest epidemia AIDS i immunosupresja powstała z innych przyczyn.

Zoonozy można różnie klasyfikować, biorąc pod uwagę cykl krążenia czynnika etiologicznego w przyrodzie, rezerwuar, czynnik etiologiczny i grupy ryzyka zachorowania.

Zoonoza krążąca w środowisku głównie dzięki przeniesieniu się z jednego zwierzęcia na drugie aby następnie w pewnych warunkach zostać przeniesioną na człowieka nazywana jest **antropozoonozą** (brucelloza, choroba kociego pazura). Pojęcie zoonozy obejmuje nie tylko choroby przenoszone ze zwierząt na człowieka ale również w odwrotnym kierunku z człowieka na zwierzęta – **zooantroponoza**.

Niektóre zakażenia mogą utrzymywać się w przyrodzie krążąc zarówno wśród ludzi jak i wśród zwierząt aby czasami przejść od zwierząt do ludzi bądź odwrotnie od ludzi na zwierzęta – **amfiksenoza**.

Rezerwuar zwierzęcy zakażeń jest bardzo zróżnicowany. Dla utrzymania i krążenia zakażenia w środowisku może być wystarczający tylko jeden gatunek zwierzęcia, jak np. wścieklizna w niektórych rejonach może mieć cykl pies-pies, nietoperz-nietoperz, szop-szop. Inne przechodzą cyklicznie przez dwa gatunki zwierząt, jak np. tasiemczyca wywołana przez *Echinococcus* sp. (hydatytoza), krążąca u owiec i psów – **cyklozoonoza**.

Zakażenia wymagające jako przenosiela stawonoga (wektor) to **metazoonozy**. Udział stawonogów determinuje sezonowość występowania zachorowań, zgodną z ich cyklem życiowym.

Zasięg geograficzny występowania różnych chorób odzwierzęcych uwarunkowany jest zasięgiem geograficznym występowania rezerwuaru, a w przypadku chorób przenoszonych przez stawonogi również ich zasięgiem występowania.

Możliwość zakażenia od zwierząt jest związana z pewnymi zawodami, działalnością zawodową i pozazawodową. Również niektórzy ludzie mogą być szczególnie wrażliwi na zakażenie. Wirus AIDS, terapia im-

munosupresyjna przeciwnowotworowa lub przygotowująca do transplantacji narządów tworzą rosnącą populację ludzi szczególnie wrażliwych.

Podstawą zapobiegania i kontroli wszystkich chorób zakaźnych, w tym także odzwierzęcych są stały monitoring, badania i edukacja. Działania kontrolne muszą obejmować zarówno zwierzęta jak i ludzi oraz ich interakcje. Jednak tak długo jak białko zwierzęce jest podstawowym składnikiem ludzkiej diety tak długo ryzyko zakażeń odzwierzęcych będzie jednym z głównych problemów zdrowia publicznego.

## Piśmiennictwo

- Allen K., Blascovich J.: The value of service dogs for people with severe ambulatory disabilities. *J. Amer. Med. Assoc.* **275**, 1001–1006 (1996)
- Brezinka V., Kittel F.: Psychosocial factors of coronary heart disease in women: a review. *Soc. Sci. Med.* **42**, 1351–1365 (1996)
- Friedmann E., Thomas S. A.: Pet ownership, social support, and one-year survival after acute myocardial infarction in the cardiac arrhythmia suppression trial. *Am. J. Cardiol.* **76**, 1213–1217 (1995)
- Gibbs E.P.: Emerging zoonotic epidemics in the interconnected global community. *Vet. Rec.* **26**, 673–679 (2005)
- Jung C.G.: *Men and his symbols*. Aldus Books Ltd., London 1971
- Łysiak W.: *Malarstwo białego człowieka*. Wyd. Kurpisz S.c., Poznań 1997
- Patronek G.J., Glickman L.T.: Pet ownership protects against the risks and consequences of coronary heart disease. *Med. Hypotheses*, **40**, 245–249 (1993)
- Raina P., Walter-Toewsd D., Bonnett B., Woodward C., Abernathy T.: Influence of companion animals on the physical and psychological health of older people: an analysis of a one-year longitudinal study. *J. Am. Geriatr. Soc.* **47**, 323–329 (1999)
- Siegel J.M.: Stressful life events and use of physician services among the elderly: the moderating role of pet ownership. *J. Personality & Social Psychology*, **58**, 1081–1086 (1990)
- Tanenbaum J.: *Veterinary Ethics*. Williams & Wilkins, 1985
- Weber C.J.: Update on infections you can get from pets. *Urol. Nurs.* **25**, 485–487 (2005)



**Elżbieta Katarzyna Jagusztyn-Krynicka, Agnieszka Wyszyńska, Anna Maria Łasica**

Zakład Genetyki Bakterii UW, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, e-mail: [kjkryn@biol.uw.edu.pl](mailto:kjkryn@biol.uw.edu.pl)

1. Wstęp. 2. *Campylobacter jejuni* – charakterystyka patogenu. 3. Geny warunkujące komensalizm. 4. Inwazyjność. 5. Wpływ procesów glikozylacji białek na oddziaływanie z komórkami eukariotycznymi. 6. Indukcja stanu zapalnego. 7. Podsumowanie

#### **Interaction between *Campylobacter jejuni* and eukaryotic cells – commensalism vs. pathogenicity**

**Abstract:** *Campylobacter jejuni* is a leading cause of acute bacterial gastroenteritis in humans. However the bacterium is commensal in cattle, swine and birds. Colonization of the chick gastrointestinal track is multifactorial process. Numerous studies such as STM mutagenesis, differential hybridization and comparative genomics resulted in identification of many genes involved in bird intestine colonization. Also invasion of the eucaryotic cells by *Campylobacter* require activity of many gene products. They are encoded by chromosomal as well as plasmid genes. Comparative genomics indicated some genes specific for highly invasive *Campylobacter* strains. Some proteins which are involved in pathogen internalization are probably secreted through the flagellar apparatus. Infection of culture epithelial cells with *Campylobacter* results in activation of the nuclear factor NF- $\kappa$ B and in induction of the proinflammatory cytokine (IL-8) production.

1. Introduction. 2. *Campylobacter jejuni* – pathogen characterization. 3. Genes involved in commensalism. 4. Invasion. 5. Role of protein glycosylation in *Campylobacter* interaction with eucaryotic cells. 6. Induction of the cytokine production. 7. Conclusions

---

**Słowa kluczowe:** glikozylacja, inwazyjność, patogenez, stan zapalny

**Key words:** glycosylation, inflammation, invasion, pathogenesis

---

## **1. Wstęp**

Dane Światowej Organizacji Zdrowia alarmują, że rocznie w skali światowej z powodu chorób infekcyjnych, często tych, którym potrafimy zapobiegać, umiera około 15 milionów ludzi. Ponad połowa z nich to dzieci w wieku poniżej pięciu lat. Przeprowadzony w 2002 roku przegląd literatury wykazał, że znamy 1415 gatunków organizmów patogennych dla człowieka (w tym 538 bakterii, 217 wirusów i prionów, 66 pierwotniaków, 307 grzybów i 287 pasożytów jelitowych) [49]. Jednakże większość przypadków śmiertelnych (ponad 90%) spowodowanych jest przez nieliczne drobnoustroje, które w dobie antybiotyków, szczepionek oraz olbrzymiego postępu naukowego, powinny znajdować się pod naszą kontrolą. Największe „źniwo” zbierają choroby układu oddechowego, gruźlica, choroby biegunkowe, malaria, odra i ostatnio AIDS. Przyczyn tak wysokiej śmiertelności i zachorowalności można wymienić wiele. Oczywiście jest, że niski poziom warunków socjo-ekonomicznych panujących w wielu krajach świata sprzyja mikroorganizmom chorobotwórczym. Dodatkowo poza „starymi” wirulentnymi

drobnoustrojami, z którymi, jeszcze nie nauczyliśmy się skutecznie walczyć, stale pojawiają się nowe, tzw. wyłaniające się patogeny (emerging pathogens). Można jako przykłady podać wirus HIV, czynnik etiologiczny choroby Creutzfelda-Jacoba vC/J, a wśród bakterii takie gatunki jak np. *Legionella pneumoniae*, *Campylobacter jejuni*, *Bartonella henselae*, *Helicobacter pylori*, *Borrelia burgdorferi*. Duże zagrożenie stanowią także chorobotwórcze gatunki należące do grupy określanej w literaturze anglojęzycznej terminem re-emerging (pojawiające się na nowo). Zaliczamy do nich szczepy dobrze nam znanych mikroorganizmów, które drogą mutacji lub horyzontalnego transferu genów nabyły nowe geny znacząco zwiększające ich wirulencję (oporne na antybiotyki szczepy *Mycobacterium tuberculosis* czy *Staphylococcus aureus*, szczepy *E. coli* EHEC (enterohemokrowotoczne), produkujące egzotoksyny szczepy gronkowców. Wśród mikroorganizmów chorobotwórczych dla człowieka 175 gatunków (12% wszystkich jak dotąd zidentyfikowanych) przyporządkowano do obu grup patogenów. Większość z nich, bo aż 75% to wirulentne drobnoustroje odzwierzęce [49].

Poważny problem medyczny i ekonomiczny stanowi narastająca oporność wielu szczepów bakteryjnych na antybiotyki. Zjawisko to spowodowane zostało niewłaściwym stosowaniem antybiotyków w terapii chorób

ludzkich, ale także używaniem tych samych leków antybakteryjnych jako stymulatorów wzrostu w stadach zwierząt hodowlanych. Jako przykład niewłaściwego stosowania antybiotyków w weterynarii można podać wzrastającą oporność na antybiotyki bakterii rodzaju *Campylobacter*, czynnika etiologicznego stanów zapalnych jelit. W terapii zakażeń *Campylobacter* stosowane są dwa antybiotyki: erytromycyna u pacjentów ze zdiagnozowaną kamylobakteriozą i fluorochinolony u pacjentów z nie diagnozowanymi stanami zapalnymi jelit. Ta druga grupa chemioterapeutyków, ulepszonych „chinolonów” pokrewnych kwasu nalidiksowego ma stosunkowo szerokie spektrum działania i jest lekiem z wyboru w wypadku stwierdzenia stanów zapalnych jelit. W ostatnich latach w wielu krajach (Dania, Holandia, Hiszpania, USA) zanotowano wzrost częstości występowania szczepów *C. jejuni* opornych na fluorochinolony, co powiązano z masowym stosowaniem tego antybiotyku na fermach drobiu (główne źródło infekcji ludzkich). I tak np. w Hiszpanii dwa lata po wprowadzeniu do użycia fluorochinolonów w weterynarii ponad połowa izolowanych od pacjentów szczepów *Campylobacter* jest oporna na ten standardowo stosowany w terapii antybiotyk [8].

## 2. *Campylobacter jejuni* – charakterystyka patogenu

*C. jejuni*, Gram-ujemna, mikroaerofilna pałeczka należąca do klasy Epsilonproteobacteria, to aktualnie najczęściej izolowany ludzki enteropatogen, zarówno w krajach uprzemysłowionych, jak i rozwijających się. W roku 1996 46% laboratoryjnie potwierdzonych przypadków stanów zapalnych jelit wywołanych było infekcją szczepami rodzaju *Campylobacter*. Obecnie w USA, gdzie rocznie rejestrowanych jest 2.1 do 2.4 milionów przypadków kamylobakteriozy, *C. jejuni* jest izolowany od pacjentów z objawami stanów zapalnych jelit 3 do 4 razy częściej niż mikroorganizmy rodzaju *Salmonella* czy *Shigella*. Podobnie przedstawiają się dane epidemiologiczne dla Wielkiej Brytanii. W Polsce nie ma programu monitorowania zakażeń pałeczkami rodzaju *Campylobacter*. Z 19 opisanych gatunków drobnoustrojów należących do rodzaju *Campylobacter*, ludzkie infekcje wywoływane są głównie przez dwa gatunki: *Campylobacter coli* i *C. jejuni*. Te dwa nierozróżnialne klinicznie gatunki odpowiadają za ponad 95% przypadków chorobowych [2, 5].

Kliniczne spektrum symptomów chorobowych towarzyszących infekcjom *Campylobacter* waha się od słabych biegunek do silnych stanów zapalnych jelit manifestujących się krwawą, śluzową biegunką. U niewielkiego procentu osób zakażonych dochodzi do ogólnoustrojowych infekcji, przeniesienia zakażenia na inne organy oraz/lub do posocznicy. Wywołana za-

każeniem *Campylobacter* posocznica charakteryzuje się wysoką śmiertelnością, co wynika głównie z faktu dramatycznie wzrastającej liczby szczepów opornych na stosowane w terapii antybiotyki. Ciężkie objawy chorobowe dotyczą głównie osób o obniżonej odporności (małe dzieci w wieku poniżej dwóch lat, ludzie starsi, ludzie po przebytych chorobach nowotworowych czy zainfekowani wirusem HIV). Zwiększająca się liczba diagnozowanych poważnych objawów chorobowych związana jest też z podwyższaniem wieku ludzkiej populacji [31, 42]. Poważną konsekwencją zakażenia ludzi *C. jejuni* może być wystąpienie chorób autoimmunizacyjnych, takich jak reaktywny artretyzm oraz choroby neurologiczne: syndrom Guillain-Barré (GBS) lub syndrom Miller-Fisher (MFS). Około 30–40% przypadków GBS jest następstwem infekcji *Campylobacter*, a częstość występowania tego zespołu chorobowego szacowana jest na 1–2 przypadki na 1000 zdiagnozowanych infekcji *Campylobacter* [33]. Wystąpienie objawów chorobowych ze strony układu nerwowego zależne jest nie tylko od serotypu patogenu, ale także od genotypu pacjenta, czynników regulujących odpowiedź immunologiczną gospodarza.

## 3. Geny warunkujące komensalizm

Do ludzkich infekcji *Campylobacter* (w krajach rozwiniętych) dochodzi najczęściej przez spożycie nieodpowiednio przygotowanego drobiu, nie pasteryzowanego mleka lub wody zanieczyszczonej pałeczkami patogenu. Niewątpliwie głównym źródłem zarażenia są kurczęta ulegające kolonizacji we wczesnym okresie życia. Mechanizm zapoczątkowania infekcji na fermach pozostaje niewyjaśniony, lecz niezależnie od źródła zakażenia drobnoustrojów rozprzestrzenia się w stadach kurcząt bardzo szybko doprowadzając do zakażenia 100% ptaków. Chociaż poziom kolonizacji jelit kurcząt jest bardzo wysoki (maksymalnie  $10^{10}$  CFU/g zawartości jelit), nie wywołuje to u ptaków objawów chorobowych. Fakt ten uniemożliwia eliminację ze stad osobników zainfekowanych. Do dalszego zanieczyszczenia tusz kurcząt pałeczkami *Campylobacter* dochodzi w rzeźniach, tak, że ponad 90% tusz kurcząt znajdujących się na rynku zawiera dużą liczbę komórek tego drobnoustroju [7]. Ponieważ dawka infekcyjna dla człowieka jest względnie niska, do zakażeń ludzi dochodzi stosunkowo łatwo i często. Proces kolonizacji przewodu pokarmowego kurcząt przez szczepy *Campylobacter* jest procesem wieloetapowym, złożonym i wymagającym aktywności wielu genów. Szczepy *Campylobacter* znacząco różnią się potencjałem kolonizacyjnym. I tak np. szczep *C. jejuni* 81116 przy dawce infekcyjnej nawet tak niskiej jak około  $10^2$  cfu zasiedla jelita 100% ptaków. Dla osiągnięcia

nięcia podobnego efektu konieczne jest użycie  $10^9$  cfu szczepu *C. jejuni* 11168 [1].

Po zsekwencjonowaniu, w roku 2000, materiału genetycznego szczepu *C. jejuni* NCTC 11168 przeprowadzono wiele eksperymentów mających na celu wyjaśnienie zjawisk komensalizmu [34]. Analizowano genomy i transkryptomy szczepów o różnym potencjale kolonizacyjnym. Doświadczenia te to np. porównanie metodą różnicującej hybrydyzacji genomów szczepów 81116 i NCTC11168 [1], mutageniza STM (signature tagged mutagenesis) szczepu *C. jejuni* 81176 i analiza mutantów o obniżonym potencjale kolonizacyjnym [14], porównanie transkryptomu szczepu *C. jejuni* NCTC 11168H hodowanego *in vitro* i *in vivo* [48], porównanie transkryptomów i proteomów szczepów NCTC 11168-V1 (O – original) i NCTC 11168-V26 (GS – genome sequenced) [11, 19]. Pierwszy z nich to oryginalny kliniczny izolat *C. jejuni* NCTC 11168 otrzymany od pacjenta i zamrożony w roku 1977, a drugi to ten sam szczep ale wielokrotnie pasażowany w warunkach laboratoryjnych. Zsekwencjonowano genom szczepu *C. jejuni* NCTC 11168-V26. Warianty te wykazywały istotne różnice fenotypowe. Jedna z nich dotyczyła poziomu kolonizacji przewodu pokarmowego kurcząt. Wariant V1 okazał się dużo bardziej agresywnym kolonizatorem. Metody genotypowania i genomotypowania nie wykazały różnic pomiędzy genomami obu szczepów, zaś analiza transkryptomów i proteomów udokumentowała znaczące rozbieżności w poziomie ekspresji wielu genów.

Badania porównawcze doprowadziły do stworzenia długich list genów potencjalnie warunkujących zasiedlanie jelit kurcząt przez mikroorganizmy rodzaju *Campylobacter*. I tak np. mutageniza STM zakończyła się identyfikacją 29 mutantów w 22 różnych genach potencjalnie odgrywających rolę w zasiedlaniu przewodu pokarmowego kurcząt. Inaktywacja ponad połowy z nich (12 genów) objawiała się fenotypowo brakiem zdolności mikroorganizmu do ruchu. Szczepy defektywne w pozostałych dziesięciu genach zachowały zdolność do poruszania się, ale również kolonizowały jelita kurcząt na niższym poziomie, co potwierdziło wcześniejsze obserwacje, że aktywne przemieszczanie się, nie odgrywa krytycznej roli w procesie kolonizacji jelit ptaków. Do drugiej grupy należały mutanty w genach biorących udział w procesie N-glikozylacji białek, genach kodujących białka systemu transportu typu ABC, uczestniczących w transporcie aminokwasów do wnętrza komórki bakterii czy genie kodującym potencjalną peroksydazę cytochromu c. W obrębie analizowanej grupy genów na szczególną uwagę zasługują *cj0019c* i *cj0020c*, dwa zachodzące, prawdopodobnie ko-transkrybowane geny, których inaktywacja objawia się obniżeniem potencjału kolonizacyjnego nawet 1 milion razy. Nazwano je od-

powiednio *docA* i *docB* (determinant of chick colonization). Pierwszy koduje białko homologiczne do protein grupy MCP (methyl-accepting chemotaxis protein), a drugi potencjalną peryplazmatyczną peroksydazę cytochromu c, enzym odgrywający rolę w zamianie  $H_2O_2$  do  $H_2O$  [14].

Porównanie transkryptomów szczepu *C. jejuni* 11168H (highly motile) hodowanego w warunkach *in vitro* i *in vivo* wykazało różnice w poziomie ekspresji 59 genów [48].

W roku 2005 porównano sekwencję nukleotydową szczepu *C. jejuni* NCTC 11168 (kliniczny izolat) z sekwencją nukleotydową szczepu *C. jejuni* RM1221 (izolowany od kurcząt). Genom szczepu *C. jejuni* RM 1221 jest synteniczny w stosunku do genomu *C. jejuni* NCTC 11168, choć zawiera cztery wintegrowane elementy (profagi/wyspy genomowe). Ponieważ większość zawartych w tych regionach ORF koduje hipotetyczne białka, trudno wnioskować o ich roli w procesach wirulencji czy adaptacji do swoistych nisz ekologicznych. Oba szczepy kodują trzy czynniki sigma RNAP oraz podobną liczbę białek układów dwuskładnikowych (pięć z nich wydaje się być konserwowanych wśród przedstawicieli różnych gatunków rodzaju *Campylobacter*), co może sugerować podobieństwo mechanizmów regulacyjnych na poziomie transkrypcji [10].

Szybka adaptacja wielu bakterii patogennych do zmieniających się warunków środowiska zapewniają sprawnie działające układy dwuskładnikowe (TCSTS – two components signal transduction system). Proste układy dwuskładnikowe składają się z białka sensorowego odbierającego sygnał oraz cytoplazmatycznego białka regulatorowego zdolnego, po odebraniu sygnału i zmianie konformacji, do oddziaływania z regionami promotorowymi genów. Przekazanie informacji polega na transferze grupy fosforanowej, której dawcą jest ATP – z histydyny białka sensorowego, o aktywności kinazy, na kwas asparaginowy białka regulatorowego, co doprowadza do zmiany jego konformacji i umożliwia wiązanie z odpowiednimi sekwencjami nukleotydowymi w regionach promotorowych. Defosforylacja powoduje powrót systemu do stanu wyjściowego.

W genomie *C. jejuni* NCTC 11168 zidentyfikowano dziewięć genów kodujących potencjalne białka regulatorowe i sześć kodujących białka sensorowe. Trzy z TCSTS były analizowane eksperymentalnie: *DccR/DccS* (diminished capacity to colonize) [28], *RacR/RacS* (reduced ability to colonize) [4] oraz *FlgR/FlgS* (flagella) [50]. Aktywność tych trzech systemów reguluje ekspresję wielu genów odpowiedzialnych za przebieg procesu kolonizacji. Sygnał rozpoznawany przez układ dwuskładnikowy *DccR/DccS* pozostaje jak dotąd nieznan, choć udokumentowano, że mutanty w genie *dccR*, nie wytwarzające białka regulatorowego, wykazują znacząco obniżoną zdolność kolonizacji

przewodu pokarmowego dwu gatunków zwierząt: kurcząt (1-dniowe ptaki) oraz myszy (szczep C3H I-LF (immunocompetent limited flora) i SCID-LF (severe combined immunodeficient limited flora)). Drugi z systemów TCSTS prawdopodobnie istotny dla przeżywalności *C. jejuni* w jego naturalnym środowisku jelita, to dwuelementowy układ RacR/RacS. Odpowiada on za regulację transkrypcji co najmniej 11 genów w odpowiedzi na zmiany temperatury.

Trzeci, najdokładniej przeanalizowany eksperymentalnie dwuskładnikowy system regulacyjny to układ FlgS/FlgR, odpowiedzialny za regulację ekspresji regulonu *fla*, związanego z tworzeniem wici komórek *Campylobacter* [50]. W komórkach bakterii Gram-ujemnych geny kodujące białka strukturalne budujące aparat wici ulegają ekspresji w hierarchicznym porządku, w kolejności zgodnej z sekwencją ich włączania do powstającego organellum. W procesie biogenezy wici uczestniczą produkty ponad 50 genów zlokalizowanych w 32 loci, co sugeruje złożoność mechanizmu kontroli regulonu *fla* [6, 13]. Testy kolonizacji przewodu pokarmowego 1-dniowych kurcząt wykazały 10-krotnie obniżoną zdolność zasiedlania jelit drobiu przez mutanty defektywne w systemie FlgR/S [50].

#### 4. Inwazyjność

Szczepy *Campylobacter* znacząco różnią się poziomem inwazyjności. Obserwowana częstość inwazyjności mierzona w teście gentamycynowym wynosi od 0.5 do 2.7%. Tak znaczące różnice mogą wynikać z różnic w genotypach szczepów, różnic w stosowanych liniach komórkowych (linie Int407, Hela, CaCo2 czy T84) oraz metodologii wykonywania pomiaru (różnice w liczbie komórek patogenu w stosunku do komórek eukariotycznych). Generalnie szczepy charakteryzujące się wyższym poziomem inwazyjności izolowane są od osób z cięższymi objawami chorobowymi, silnymi stanami zapalnymi jelit. *Campylobacter* pobierany jest na drodze endocytozy i przebywa na terenie komórek eukariotycznych w wakuoli przez ograniczony czas – około 60 min. Internalizacja bakterii związana jest, w zależności od użytego do badań szczepu, z przebudową cytoszkieletu aktynowego komórek lub rearanzacją mikrotubuli. Obserwowany jest także wzrost stężenia jonów wapnia oraz fosforylacja kilku białek komórek eukariotycznych [15, 39]. Mechanizm indukcji tych procesów przez czynniki bakteryjne nie jest do końca wyjaśniony. Bez względu na element wpływającym na poziom inwazyjności jest zdolność do ruchu. Mutanty w genach warunkujących ruchliwość wykazują znacząco obniżony poziom inwazyjności. Aktywność kilku adhezyn *Campylobacter* takich jak np. CadF, JlpA czy Peb1 również wpływa na

zdolność szczepów do wnikania do komórek eukariotycznych [18, 29, 35]. Efektem mutacji w genie *cadF*, kodującym białko wiążące fibronektynę jest obniżenie poziomu inwazyjności. Fakt ten sugeruje, że *Campylobacter* może wnikać do enterocytów od ich powierzchni przypadkowej, bowiem tylko na tej ich powierzchni występują  $\alpha_1\beta_5$  integryny, będące receptorami rozpoznawanymi przez fibronektynę, składnik macierzy zewnątrzkomórkowej [22, 30].

Szczip *Campylobacter* 81176, charakteryzujący się wysokim poziomem inwazyjności, niesie plazmid pVir, potencjalnie kodujący 54 białka, z czego wiele to ortologi genów *H. pylori* budujące aparat sekrecyjny typu IV. Analiza mutacyjna wykazała, że aktywność, co najmniej siedmiu z tych genów wpływa na inwazyjność mikroorganizmu. Jednak przeniesienie plazmidu pVir do komórek szczepu *C. jejuni* 11168 o niskim poziomie inwazyjności nie zwiększało jego zdolności do wnikania do komórek Int407 [3].

Poziom inwazyjności zależny jest dodatkowo od zdolności szczepu do wytwarzania białek sekrecyjnych oznaczanych symbolem Cia. Są one wydzielane do podłoża po kontakcie z komórkami eukariotycznymi [23, 40]. Mechanizm ich sekrecji pozostaje niewyjaśniony. W genomie *C. jejuni* 11168 nie odnaleziono genów budujących aparat sekrecyjny typu III odpowiedzialny u wielu patogennych bakterii za przekazywanie białek efektorowych do komórek eukariotycznych. W ostatnich latach wykazano, że niektóre białka *Campylobacter* (Cia, FlaC), których aktywność wpływa na poziom inwazyjności wydzielane są do środowiska poprzez aparat budujący rzęski [24, 43].

W ostatnich latach wykorzystując fakt zsekwencjonowania genomu szczepu *C. jejuni* NCTC 11168 i opracowania techniki mikropaneli porównano genomy kilku szczepów *Campylobacter* charakteryzujących się różnym poziomem inwazyjności. Badania te doprowadziły do identyfikacji wielu genów potencjalnie odgrywających rolę w procesach internalizacji patogenu. Szczip *C. jejuni* ATCC 43431 określany jako wysoce inwazyjny nie niesie plazmidu pVir, co sugeruje, że prawdopodobnie dysponuje on mechanizmem inwazyjności niezależnym od genów plazmidowych. W genomie badanego szczepu brak jest 88 ORF występujących w materiale genetycznym szczepu NCTC 11168 o niskim potencjale inwazyjności. Zawiera on 130 unikatowych ORF (około 83 000 pz). Skład nukleotydowy tych fragmentów DNA (26% GC) odbiega od przeciętnego składu nukleotydowego materiału genetycznego tego gatunku bakterii, co wskazuje, że część z nich mogła zostać nabyta w drodze horyzontalnego transferu genów. Wiele z produktów unikatowych genów wykazuje wysokie podobieństwo sekwencji aminokwasowych do sekwencji aminokwasowych genów *Helicobacter hepaticus* potencjalnie umiejscowionych w obrębie

wysp patogenności i kodujących białka budujące aparat sekrecyjny typu IV. Badania te pozwoliły na postawienie hipotezy, że szczep *C. jejuni* ATCC 43431 dysponuje aparatem sekrecyjnym kodowanym przez geny chromosomowe [37]. Poly i wsp. porównywali także zestaw genów chromosomowych szczepu NCTC 11168 i 81176 (szczep o wysokim potencjale inwazyjności niosący plazmid pVir) [36]. W genomie tego drugiego zidentyfikowano 84 unikatowe ORF kodujące głównie białka biorące udział w budowie LPS oraz otoczek komórki, białka warunkujące procesy restrykcji i modyfikacji oraz liczne enzymy szlaków oddechowych. Jedynym wspólnym genem dla obu szczepów o wysokim poziomie inwazyjności, którego brak jest w genomie NTCT 11168 jest homolog genu *traG* *Neisseria gonorrhoeae* – potencjalnie kodujący białko składnik systemu transportu typu IV. Przedstawione wyżej hipotezy wynikające z badań genomiki porównawczej wymagają dalszej eksperymentalnej weryfikacji.

## 5. Wpływ procesów glikozylacji na oddziaływanie z komórkami eukariotycznymi

Jedną z potranslacyjnych modyfikacji białek jest glikozylacja. Do niedawna uważano, że proces glikozylacji białek występuje wyłącznie w komórkach eukariotycznych. Ostatnio udokumentowano, że glikoproteiny obecne są w proteomach organizmów prokariotycznych a *C. jejuni* jest jednym z nielicznych mikroorganizmów przeprowadzających N-glikozylację białek [27, 41, 45]. W procesie N-glikozylacji przyłączanie oligomerów cukrowych zachodzi przez wiązanie z resztą amidową Asn ściśle konserwowanego motywu NXS/T, gdzie X może być dowolnym aminokwasem z wyjątkiem praliny [51]. Występowanie motywu NXS/T jest warunkiem koniecznym, ale niewystarczającym do zajścia procesu N-glikozylacji [32]. Proces przyłączania oligomeru cukrowego do białek ma miejsce na terenie peryplazmy.

Geny szczepu *C. jejuni* 81176 kodujące proteiny zaangażowane w proces N-glikozylacji białek nazwano *pgl* (protein glycosylation). Wśród Epsilonproteobacteria zespół 15 genów *pgl* o potencjalnie identycznej funkcji i podobnej organizacji odnaleziono metodami bioinformatycznymi w genomach przedstawicieli rodzaju *Campylobacter* (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* i *C. upsaliensis*) oraz w genomie *Wolinella succinogenes*. Brak ich w zsekwencjonowanych genomach przedstawicieli dwóch gatunków rodzaju *Helicobacter* (*H. pylori* J99, *H. pylori* 26695 oraz *H. hepaticus*) [9].

Udokumentowano, że około trzydzieści protein *C. jejuni* podlega procesowi N-glikozylacji. Unieczynnienie genów szlaku glikozylacji wpływa na wiele procesów związanych z wirulencją mikroorganizmu i pro-

cesami komensalizmu np. prowadzi do obniżenia poziomu adhezji, inwazyjności oraz kolonizacji organizmu gospodarza. Efektem braku glikozylacji jest też obniżenie poziomu pobierania obcego DNA czy transportu aminokwasów [20, 46]. Tylko nieliczne białka *C. jejuni* modyfikowane na drodze N-glikozylacji zostały scharakteryzowane funkcjonalnie [25, 26].

## 6. Indukcja stanu zapalnego

Podczas ludzkich infekcji *Campylobacter* dochodzi do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF  $\kappa$ B, co skutkuje podniesieniem poziomu wytwarzania przez komórki eukariotyczne IL-8 [17, 47]. Znane są dwie główne strategie stosowane przez bakterie patogenne prowadzące do indukcji wytwarzania cytokin stanu zapalnego: oddziaływanie z receptorami TLR lub zmiany szlaków sygnalizacyjnych komórek gospodarza przez efektorowe białka mikroorganizmów, przekazywane do komórek gospodarza przez swoiste systemy sekrecyjne typu III lub IV.

W organizmach kręgowców pierwszą linię obrony przeciwko infekcjom bakteryjnym stanowi wrodzony układ immunologiczny. Konserwowane struktury bakteryjne, charakterystyczne dla dużych grup mikroorganizmów selektywnie rozpoznawane przez specyficzne receptory noszą nazwę wzorców molekularnych związanych z patogenami i określane są skrótem PAMP (pathogen associated molecular patterns), a wiążące je receptory nazwano receptorami dla wzorców PRR (pattern recognition receptors). Dużą grupę tego typu receptorów stanowią cząsteczki TLR (Toll-like receptors) usytuowane głównie, choć nie tylko, w błonach komórek prezentujących antygen. Ich stymulacja prowadzi do indukcji wytwarzania wielu mediatorów stanu zapalnego. Receptory TLR ssaków posiadają zewnątrzkomórkową domenę LRR (leucine-rich repeats) oraz cytoplazmatyczny odcinek wykazujący strukturalne podobieństwo do receptora dla IL-1 i określane skrótem TIR (Toll/IL-1R). Jak do tej pory, zidentyfikowano dziesięć typów ssaczych receptorów TLR, oznaczanych numerami od 1 do 10. Dla kilku klas udało się określić stymulujące je ligandy takie jak np. lipoproteiny, peptydoglikan, dwuuniciowy RNA, lipopolisacharyd, kwas lipotejchojowy [21, 46]. Główną rolę w indukcji wytwarzania cytokin przez komórki nabłonkowe pełni stymulacja receptorów TLR5 przez bakteryjne flagelliny [38]. Wykazano, że zarówno lipopolisacharyd jak i flagellina *Campylobacter* są łabymi stymulatorami receptorów TLR i nie odgrywają istotnej roli w indukcji produkcji pozapalnych cytokin [47]. Podobne obserwacje poczyniono w odniesieniu do pokrewnego gatunku, *H. pylori*. W wypadku *H. pylori*, produkty rozpadu peptydoglikanu generowane przez transglikozylację,

będące cząsteczką efektorową TFSS (type four secretion system), stymulują wewnątrzkomórkowe receptory Nod (nucleotide-binding oligomerization domain protein) wywołując aktywację czynników transkrypcyjnych. Można sugerować, że podobna strategia stosowana jest przez *Campylobacter* [12, 16].

## 7. Podsumowanie

Przeprowadzone w ostatnich latach badania porównawcze genomów, transkryptomów i proteomów kilku szczepów mikroorganizmów rodzaju *Campylobacter* potwierdziły zmienność ich genomów. Każdy szczep zawiera unikatowe geny warunkujące głównie różnice w budowie osłon komórkowych (LPS, otoczki) oraz przebiegu procesów restrykcji i modyfikacji DNA. Zaskakująco, podstawowe geny uznawane za czynniki wirulencji, takie jak np. te kodujące adhezyny, obecne były w genomach wszystkich szczepów. Także procesy regulacji ekspresji genów na poziomie transkrypcji wydają się przebiegać podobnie, jeżeli nie identycznie, w komórkach różnych szczepów. Główne różnice w zawartości materiału genetycznego lub regulacji jego ekspresji warunkujące zdolność do zasiedlania różnorodnych nisz ekologicznych dotyczą prawdopodobnie zmienności procesów metabolicznych. Warunkują one zdolność do wykorzystania różnych związków jako ostatecznych akceptorów elektronów w procesach oddechowych oraz zdolność do wykorzystania różnych związków jako źródeł węgla i energii. Porównawcze analizy transkryptomów udokumentowały wysoki poziom zmienności poziomu transkrypcji wielu genów w zależności od warunków środowiska. Mechanizmy tych procesów pozostają nadal nie w pełni poznane. Ich wyjaśnienie wymagało będzie przeprowadzenia wielu eksperymentów; weryfikacji hipotez wynikających z badań porównawczych na drodze analizy roli poszczególnych genów w procesach adaptacji patogenu do specyficznych nisz ekologicznych.

## Piśmiennictwo

- Ahmed I.H., Manning G., Wassenaar T.M., Cawthraw S., Newell D.G.: Identification of genetic differences between two *Campylobacter jejuni* strains with different colonization potentials. *Microbiology*, **148**, 1203–1212 (2002)
- Altekruse S.F., Stern N.J., Fields P.I., Swerdlow D.L.: *Campylobacter jejuni* – an emerging foodborne pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* **5**, 28–35 (1999)
- Bacon D.J., Alm R.A., Hu L., Hickey T.E., Ewing C.P., Batchelor R.A., Trust T.J., Guerry P.: DNA sequence and mutational analyses of the pVir plasmid of *Campylobacter jejuni* 81–176. *Infect. Immun.* **70**, 6242–6250 (2002)
- Bras A.M., Chatterjee S., Wren B.W., Newell D.G., Ketley J.M.: A novel *Campylobacter jejuni* two-component regulatory system important for temperature-dependent growth and colonization. *J. Bacteriol.* **181**, 3298–3302 (1999)
- Butzler J.P.: *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.* **10**, 868–876 (2004)
- Carrillo C.D., Szymanski C.M. i wsp.: Genome-wide expression analyses of *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 reveals coordinate regulation of motility and virulence by *flhA*. *J. Biol. Chem.* **279**, 20327–20338 (2004)
- Corry J.E., Atabay H.I.: Poultry as a source of *Campylobacter* and related organisms. *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* 96S–114S (2001)
- Engberg J., Aarestrup F.M., Taylor D.E., Gerner-Smidt P., Nachamkin I.: Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg. Infect. Dis.* **7**, 24–34 (2001)
- Eppinger M., Baar C., Raddatz G., Huson D.H., Schuster S.C.: Comparative analysis of four *Campylobacterales*. *Nat. Rev. Microbiol.* **2**, 872–885 (2004)
- Fouts D.E., Nelson K.E. i wsp.: Major structural differences and novel potential virulence mechanisms from the genomes of multiple *Campylobacter* species. *PLoS Biol.* **3**, e15 (2005)
- Gaynor E.C., Cawthraw S., Manning G., MacKichan J.K., Falkow S., Newell D.G.: The genome-sequenced variant of *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 and the original clonal clinical isolate differ markedly in colonization, gene expression, and virulence-associated phenotypes. *J. Bacteriol.* **186**, 503–517 (2004)
- Girardin S.E., Boneca I.G., Viala J., Chamaillard M., Labigne A., Thomas G., Philpott D.J., Sansonetti P.J.: Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J. Biol. Chem.* **278**, 8869–8872 (2003)
- Guerry P., Alm R.A., Szymanski C.M., Trust T.J.: Structure, function, and antigenicity of *Campylobacter* flagella (w) Nachamkin I., Blaser M. J. (red.), *Campylobacter*, 2nd edition, American Society of Microbiology, Washington D.C., 2000, s. 405–421
- Hendrixson D.R., DiRita V.J.: Identification of *Campylobacter jejuni* genes involved in commensal colonization of the chick gastrointestinal tract. *Mol. Microbiol.* **52**, 471–484 (2004)
- Hu L., Kopecko D.J. Invasion (w) J.M. Ketley, M.E. Konkel (red.), *Campylobacter* – molecular and cellular biology. American Society of Microbiology, Washington D.C, 2005, s. 369–385
- Inohara N., Ogura Y., Nunez G.: Nods: a family of cytosolic proteins that regulate the host response to pathogens. *Curr. Opin. Microbiol.* **5**, 76–80 (2002)
- Jin S., Song Y.C., Emili A., Sherman P.M., Chan V.L.: JlpA of *Campylobacter jejuni* interacts with surface-exposed heat shock protein 90alpha and triggers signalling pathways leading to the activation of NF-kappaB and p38 MAP kinase in epithelial cells. *Cell Microbiol.* **5**, 165–174 (2003)
- Jin S., Joe A., Lynett J., Hani E.K., Sherman P., Chan V.L.: JlpA, a novel surface-exposed lipoprotein specific to *Campylobacter jejuni*, mediates adherence to host epithelial cells. *Mol. Microbiol.* **39**, 1225–1236 (2001)
- Jones M.A., Marston K.L., Woodall C.A., Maskell D.J., Linton D., Karlyshev A.V., Dorrell N., Wren B.W., Barrow P.A.: Adaptation of *Campylobacter jejuni* NCTC 11168 to high-level colonization of the avian gastrointestinal tract. *Infect. Immun.* **72**, 3769–3776 (2004)
- Karlyshev A.V., Everest P., Linton D., Cawthraw S., Newell D.G., Wren B.W.: The *Campylobacter jejuni* general glycosylation system is important for attachment to human

- epithelial cells and in the colonization of chicks. *Microbiology*, **150**, 1957–1964 (2004)
21. Kobayashi T., Walsh M.C., Choi Y.: The role of TRAF6 in signal transduction and the immune response. *Microbes Infect.* **6**, 1333–1338 (2004).
  22. Konkel M.E., Christensen J.E., Keech A.M., Monteville M.R., Klena J.D., Garvis S.G.: Identification of a fibronectin-binding domain within the *Campylobacter jejuni* CadF protein. *Mol Microbiol.* **57**, 1022–35 (2005)
  23. Konkel M.E., Kim B.J., Rivera-Amill V., Garvis S.G.: Bacterial secreted proteins are required for the internalization of *Campylobacter jejuni* into cultured mammalian cells. *Mol. Microbiol.* **32**, 691–701 (1999)
  24. Konkel M.E., Klena J.D., Rivera-Amill V., Monteville M.R., Biswas D., Raphael B., Mickelson J.: Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on a functional flagellar export apparatus. *J. Bacteriol.* **186**, 3296–3303 (2004)
  25. Larsen J.C., Szymanski C., Guerry P.: N-linked protein glycosylation is required for full competence in *Campylobacter jejuni* 81–176. *J. Bacteriol.* **186**, 6508–6514 (2004)
  26. Linton D., Allan E., Karlyshev A.V., Cronshaw A.D., Wren B.W.: Identification of N-acetylgalactosamine-containing glycoproteins PEB3 and CgpA in *Campylobacter jejuni*. *Mol. Microbiol.* **43**, 497–508 (2002)
  27. Linton D., Dorrell N., Hitchen G., Amber S., Karlyshev A.V., Morris H.R., Dell A., Valvano M.A., Aebi M., Wren B.W.: Functional analysis of the *Campylobacter jejuni* N-linked protein glycosylation pathway. *Mol. Microbiol.* **55**, 1695–1703 (2005)
  28. MacKichan J.K., Gaynor E.C., Chang C., Cawthraw S., Newell D.G., Miller J.F., Falkow S.: The *Campylobacter jejuni* *decRS* two-component system is required for optimal in vivo colonization but is dispensable for in vitro growth. *Mol. Microbiol.* **54**, 1269–1286 (2004)
  29. Monteville M.R., Yoon J.E., Konkel M.E.: Maximal adherence and invasion of INT 407 cells by *Campylobacter jejuni* requires the CadF outer-membrane protein and microfilament reorganization. *Microbiology*, **149**, 153–165 (2003)
  30. Monteville M.R., Konkel M.E.: Fibronectin-facilitated invasion of T84 eukaryotic cells by *Campylobacter jejuni* occurs preferentially at the basolateral cell surface. *Infect Immun.* **70**, 6665–6671 (2002)
  31. Moore J.E., Whyte P. i wsp.: *Campylobacter*. *Vet. Res.* **36**, 351–382 (2005)
  32. Nita-Lazar M., Wacker M., Schegg B., Amber S., Aebi M.: The N-X-S/T consensus sequence is required but not sufficient for bacterial N-linked protein glycosylation. *Glycobiology*, (2005) – in press
  33. Nachamkin I., Allos B.M., Ho T.: *Campylobacter* species and Guillain-Barre syndrome. *Clin. Microbiol. Rev.* **11**, 555–567 (1998)
  34. Parkhill J., Barrell B.G. i wsp.: The genome sequence of the food-borne pathogen *Campylobacter jejuni* reveals hyper-variable sequences. *Nature*, **403**, 665–668 (2000)
  35. Pei Z., Burucoa C., Grignon B., Baqar S., Huang X.Z., Kopecko D.J., Bourgeois A.L., Fauchere J.L., Blaser M.J.: Mutation in the *peb1A* locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice. *Infect. Immun.* **66**, 938–943 (1998)
  36. Poly F., Threadgill D., Stintzi A.: Genomic diversity in *Campylobacter jejuni*: identification of *C. jejuni* 81–176-specific genes. *J. Clin. Microbiol.* **43**, 2330–8 (2005)
  37. Poly F., Threadgill D., Stintzi A.: Identification of *Campylobacter jejuni* ATCC 43431-specific genes by whole microbial genome comparisons. *J. Bacteriol.* **186**, 4781–4795 (2004)
  38. Ramos H.C., Rumbo M., Sirard J.C.: Bacterial flagellins: mediators of pathogenicity and host immune responses in mucosa. *Trends Microbiol.* **12**, 509–517 (2004)
  39. Raphae B.H., Monteville M.R., Klena J.D., Joenes L.A., Konkel M.E. Interactions of *Campylobacter jejuni* with non-professional phagocytic cells (w) J.M. Ketley, M.E. Konkel (red.), *Campylocater – molecular and cellular biology*. American Society of Microbiology, Washington D.C., 2005, s. 369–385
  40. Rivera-Amill V., Kim B.J., Seshu J., Konkel M.E.: Secretion of the virulence-associated *Campylobacter* invasion antigens from *Campylobacter jejuni* requires a stimulatory signal. *J. Infect Dis.* **183**, 1607–1616 (2001)
  41. Schmidt M.A., Riley L.W., Benz I.: Sweet new world: glycoproteins in bacterial pathogens. *Trends Microbiol.* **11**, 554–561 (2003)
  42. Skirrow M.B., Blaser M.J.: Clinical aspects of *Campylobacter* infection (w) Nachamkin I., Blaser M. J. (red.), *Campylobacter*, 2nd edition, American Society of Microbiology, Washington D.C., 2000, s. 69–89
  43. Song Y.C., Chan V.L. i wsp.: FlaC, a protein of *Campylobacter jejuni* TGH9011 (ATCC43431) secreted through the flagellar apparatus, binds epithelial cells and influences cell invasion. *Mol. Microbiol.* **53**, 541–53 (2004)
  44. Szymanski C.M., Burr D.H., Guerry P.: *Campylobacter* protein glycosylation affects host cell interactions. *Infect. Immun.* **70**, 2242–2244 (2002)
  45. Szymanski C.M., Logan S.M., Linton D., Wren B.W.: *Campylobacter* – a tale of two protein glycosylation systems. *Trends Microbiol.* **11**, 233–238 (2003)
  46. Takeuchi O., Akira S.: Genetic approaches to the study of Toll-like receptor function. *Microbes Infect.* **4**, 887–895 (2002)
  47. Watson R.O., Galan J.E.: Signal transduction in *Campylobacter jejuni* – induced cytokine production. *Cell Microbiol.* **7**, 655–665 (2005)
  48. Woodall C.A., Jones M.A., Barrow P.A., Hinds J., Marsden G.L., Kelly D.J., Dorrell N., Wren B.W., Maskell D.J.: *Campylobacter jejuni* gene expression in the chick cecum: evidence for adaptation to a low-oxygen environment. *Infect Immun.* **73**, 5278–85 (2005)
  49. Woolhouse M.E.: Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends Microbiol.* **10**, S3–7 (2002)
  50. Wosten M.M., Wagenaar J.A., van Putten J.P.: The FlgS/FlgR two-component signal transduction system regulates the *fla* regulon in *Campylobacter jejuni*. *J. Biol. Chem.* **279**, 16214–16222 (2004)
  51. Young N.M., Szymanski C.M. i wsp.: Structure of the N-linked glycan present on multiple glycoproteins in the Gram-negative bacterium, *Campylobacter jejuni*. *J. Biol. Chem.* **277**, 42530–42539 (2002)



Tadeusz Plusa

Wojskowy Instytut Medyczny, Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii CSK MON  
00-909 Warszawa, ul. Szaserów 128, tel/fax 022 6-816-588, e-mail: tplusa@wim.mil.pl

**Streszczenie:** Obecnie bioterroryzm znajduje się w centrum uwagi na całym świecie. Wiadomo, że patogeny wirusowe i bakteryjne mogą być zastosowane jako broń biologiczna. Najbardziej niebezpieczne są gorączki krwotoczne spowodowane przez wirusy Ebola czy Marburg, ponieważ są odpowiedzialne za bardzo ciężkie objawy prowadzące do wstrząsu i śmierci. Z kolei droga wziewna zakażeń bakteryjnych spowodowanych przez węglik czy legionelę pozostaje w bezpośrednim związku z powierzchnią płuc. Liczba zainhalowanych patogenów decyduje o obrazie klinicznym, czasie trwania zakażenia i jego powikłaniach.

1. Wstęp. 2. Wirusowe gorączki krwotoczne. 3. Ciężki ostry zespół oddechowy. 4. Ptasia grypa. 5. Skutki zakażeń wirusowych

#### Contemporary viral inhaled infections of the respiratory tract

**Abstract:** Nowadays bioterrorism is in a focus of interest over the world. It is well known that viral and bacterial pathogens may be useful as a biological weapon. The most dangerous diseases are hemorrhagic fevers caused by Ebola and Marburg viruses, which are responsible for very serious symptoms leading to shock and death. On the other hand the inhaled rout of bacterial infections caused by anthrax or legionella is related to great area of the lung tissue. The number of inhaled pathogens influence the clinical picture, duration and complications of infections.

1. Introduction. 2. Viral hemorrhagic fevers. 3. Severe Acute Respiratory Syndroms. 4. Viral infections effects.

**Słowa kluczowe:** bioterroryzm, gorączka krwotoczna, SARS, ptasia grypa

**Key words:** bioterrorism, viral hemorrhagic fever, SARS, avian influenza

## 1. Wstęp

Skażenie powietrza, jako tzw wariant aerozolowy broni biologicznej, jest najbardziej niebezpieczne, ale równocześnie najbardziej realne do użycia przez bioterrorystów [7, 13]. Wynika to z faktu, że większość czynników biologicznych łatwo może być przenoszona drogą powietrzną. Z kolei duża dostępność urządzeń do wytworzenia aerozolu stwarza dogodną sytuację do zastosowania tej formy do rozprzestrzenienia groźnych dla życia patogenów [3].

## 2. Wirusowe gorączki krwotoczne

Zespoły chorobowe wirusowej gorączki krwotocznej (VHF – viral hemorrhagic fever) spowodowane są zakażeniem różnego typu wirusami zawierającymi RNA. Ze względu na sposób zakażenia w warunkach naturalnych wyróżnia się wirusowe gorączki:

- **szerzące się na drodze bezpośredniego kontaktu wziewnego** z wydaliniami i wydzielinami gryzoni, np. gorączki z regionu Ameryki Południowej (argentyńska gorączka krwotoczna wywołana przez wirusa Junin, boliwijska gorączka krwotoczna wywołana przez wirusa Machupo, brazylijska gorączka krwotoczna wywołana przez wirusa Sabia), a także gorącz-

ki spowodowane przez Hanta-wirusy (szczep Dobrava na Półwyspie Bałkańskim i szczep Puumala w europejskiej części Rosji, Skandynawi, Czechach, Słowacji i sporadycznie w Europie Zachodniej) [28, 29];

- **wirusy Marburg i Ebola** należą do rodziny *Filoviridae*, zawierają RNA i występują w dwóch biotypach. Głównym rezerwuarem wirusów są małpy. Drogą szerzenia się zakażenia jest kontakt bezpośredni między ludźmi, a także krew, wydzieliny, narzędzia chirurgiczne i strzykawki. Nie wyklucza się drogi wziewnej do szerzenia się choroby [5]. Nie mniej za wrota zakażenia przyjmuje się skórę, przewód pokarmowy, spojówki oka i drogi oddechowe [16].
- **przenoszone przez bezpośredni kontakt z osobą chorą**, m.in. gorączka Lassa stwierdzana endemicznie w Afryce Zachodniej, mimo że pierwotnym źródłem zakażenia są gryzonie [5, 17];
- **przenoszone przez komary** na obszarach Azji, Afryki i Ameryki Południowej wywołują m.in. żółta febrę i dengę (czynnikiem są Flavowirusy występujące w krajach tropikalnych), a rezerwuarem są dzikie zwierzęta, w tym małpy; istnieje możliwość szerzenia się zakażenia drogą wziewną [21].

**Obraz kliniczny** zakażenia wirusem gorączki krwotocznej jest bardzo burzliwy. Początek choroby jest zwykle nagły, z dominującymi objawami pseudogrypowymi – z bólami głowy i mięśni. Przy objawach ogólnego rozbicia i osłabienia pojawiają się stany gorączkowe, bóle gardła i wymioty. W obrazie chorobowym

dominują plamisto-grudkowe zmiany skórne. W dalszej kolejności rozwijają się objawy zespołu wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, który warunkuje ciężki, śmiertelny przebieg zakażenia [13, 17]. Krwawienia z dróg oddechowych, przewodu pokarmowego i dróg rodnych prowadzą do wstrząsu, zespołu zaburzeń neurologicznych (zaburzenia zachowania, dezorientacja, upośledzenie pamięci) i uszkodzenia narządów mięszczywych [8]. Stan chorych jest bardzo ciężki, charakteryzujący się znacznym osłabieniem, odwodnieniem i wyniszczeniem. W końcowym okresie choroby dochodzi do znacznego obniżenia ciśnienia tętniczego krwi, przyspieszenia częstości oddechów, bezmoczności i zaburzeń świadomości. Stopień niewydolności nerek pozostaje w bezpośredniej zależności od stopnia zaburzeń krążenia [3, 16].

**Rozpoznanie** choroby oparte jest na ocenie obrazu klinicznego oraz wskaźnikach ciężkiego stanu chorego. Stwierdza się m.in. limfopenię, trombocytopenię, podwyższenie stężenia aminotransferaz, a także zmiany we wskaźnikach krzepnięcia. Możliwe jest także wykorzystanie metod immunofluorescencji pośredniej, immunoenzymatycznej (ELISA) i Western-blott do wykrywania przeciwciał przeciw-wirusowych, które pojawiają się dopiero po 7–10 dniach. Najbardziej jednak wiarygodne jest wykazanie obecności antygenów wirusa lub jego izolacja. Wykonywana jest także próba biologiczna na świnkach morskich i chomikach i *in vitro* na małych komórkach *vero*. W badaniu postmortalnym w utrwalonych w formalinie wycinkach skóry możliwe jest wykazanie obecności wirusów [5].

### 3. Ciężki ostry zespół oddechowy

Ciężki ostry zespół oddechowy (*Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS*) jest to choroba, która pojawiła się pod koniec 2002 roku [1, 26]. Przebiega ona z objawami atypowego zapalenia płuc i może prowadzić szybko do rozwoju ciężkiej niewydolności oddechowej.

Za obraz kliniczny odpowiedzialne są koronawirusy (rzęd *Nidovirales*, rodzina *Coronaviridae*, rodzaj *Coronavirus*) – wirusy RNA o dodatniej polarności, z osłonką i helikalną symetrią nukleokapsydu [11, 20]. Znane dotychczas koronawirusy należą do jednej z trzech niepowiązanych ze sobą grup serologicznych; dwie pierwsze zawierają wirusy ssaków, trzecia – tylko wirusy ptasie [11]. Ludzkie koronawirusy należą zarówno do grupy pierwszej (HCoV-229E), jak i drugiej (HCoV-OC43) i są odpowiedzialne za ponad jedną trzecią zakażeń górnych dróg oddechowych, rzadko natomiast wywołują one zakażenia dolnych dróg oddechowych [26, 28]. Zapalenia płuc, których czynnikiem etiologicznym były koronawirusy, stwierdzono jedynie u osób starszych, noworodków oraz osób z obniżoną odpornością.

Natomiast u zwierząt koronawirusy wywołują ostre zapalenie oskrzeli, zapalenie otrzewnej oraz zapalenie żołądka i jelit oraz objawy neurologiczne [14].

Zakażenie szerzy się przede wszystkim drogą wziewną. Wirus przenoszony jest w stosunkowo dużych kropelkach na odległość około 1 m. Do infekcji dochodzi na skutek wdychania cząstek wirusa lub kontaktu z błoną śluzową i spojówką. Dużą koncentrację wirusowego RNA stwierdzono w płwocinie [27]. Związana jest z tym duża zakaźność wirusa. Okres wylegania SARS wynosi zwykle od 2 do 7 dni, ale odnotowano zachorowania nawet po 10 dniach od kontaktu z chorym [10, 27].

**Obraz kliniczny SARS** jest mało charakterystyczny. Na początku choroby pojawiają się nieswoiste objawy zwiastunowe: gorączka powyżej 38°C (94–100% chorych), niekiedy połączona z dreszczami (65–74%), bóle głowy (15–50%), bóle mięśniowe (54–68%) oraz ogólnie złe samopoczucie i osłabienie (50–64%) [10, 27]. Typowo nie występują zmiany skórne ani objawy neurologiczne, natomiast obserwuje się objawy ze strony przewodu pokarmowego: wodnistą biegunkę (13–27%), nudności (22%), wymioty (~4%), bóle brzucha (~13%) [25, 27]. W badaniach laboratoryjnych w początkowym okresie choroby można stwierdzić bezwzględnie limfopenię z towarzyszącą prawidłową lub zmniejszoną liczbą krwinek białych. W okresie największego nasilenia objawów pojawia się niekiedy także małopłytkowość [10, 15].

Zmiany w badaniu radiologicznym klatki piersiowej [10, 15] to najczęściej widoczne zaciemnienia ogniskowe, zlokalizowane przede wszystkim obwodowo oraz w środkowych i dolnych polach płucnych [18]. Stopniowo powiększają się one, stają się mniej gęste, a następnie ulegają rezolucji. U części chorych w początkowym zdjęciu widoczne są zaciemnienia wieloogniskowe [18]. U około 10% chorych badania radiologiczne pozostają prawidłowe przez cały okres choroby.

**Leczenie** w okresie epidemii SRAS nie było wystarczająco dostępne i skuteczne. Najczęściej chorzy otrzymywali we wstępnym okresie standardowe leki przeciwbakteryjne, zalecane w terapii atypowych zapaleń płuc, następnie ribawirynę i glikokortykosteroidy [18]. W około 20% przypadków, w ciężkich postaciach choroby stosowano dodatkowo tlenoterapię oraz niekiedy metody inwazyjne – wentylację mechaniczną [15]. Glikokortykosteroidy, przede wszystkim metyloprednizolon i hydrokortyzon, były stosowane głównie w ciężkich postaciach choroby. Uważa się, że masywne uszkodzenie tkanek w zaawansowanym stadium SARS nie jest bezpośrednim skutkiem infekcji wirusowej, ale głównie efektem działania cytokin i innych mediatorów reakcji immunologicznej, dlatego dobre efekty mogą w tym okresie przynieść glikokortykosteroidy, ze swoim działaniem przeciwzapalnym i immunomodulującym.

#### 4. Ptasia grypa

Naturalnym rezerwuarem grypy A są ptaki wodne rzędu *Anseriformes* (kaczki i gęsi) oraz *Charadriiformes* (kury, ptactwo lądowe) [16]. U swoich naturalnych żywicieli wirusy grypy replikują głównie w obrębie układu pokarmowego i dostają się do wody wraz z wydaliniami, podtrzymując ciągły cykl transmisji wirusa [21]. W warunkach normalnych wirusy grypy powodują u swoich żywicieli w większości łagodne zakażenia, ale także kształtują możliwości do zakażenia nowo narodzonych, immunologicznie niedojrzałych osobników w każdym sezonie. Wirusy głównie zakażają ptaki z rodziny *Galiformes*, do której należą ptaki lądowe takie jak kurczaki i indyki. Niekiedy zakażeniem objęte są gatunki ssaków, bowiem wirulencja tego patogenu jest bardzo zmienna. Podobnie, stopień ciężkości zakażenia może być łagodny, a nawet bezobjawowy, ale równocześnie występują zakażenia bardzo ciężkie doprowadzające szybko do zgonu. Należy podkreślić, że zakażenia wywołane szczepem A1 rozwija się w przewodzie pokarmowym, a wtórnie dopiero zajmowane są inne narządy, w tym głównie układ oddechowy. Ponieważ wirusy grypy A wywołują wysoką śmiertelność wśród drobiu, głównie wśród kurczaków i indyków, zakażenie sklasyfikowano jako „highly pathogenic avian influenza” (HPAI) [16, 21].

Na powierzchni wirusa grypy A znajdują się białka – hemaglutynina (HA) i neuraminidaza (NA). Antygenowe odmiany w obrębie białek HA i NA stanowią podstawę klasyfikacji grypy A na podtypy [16]. Wyodróżniono 16 podtypów HA (od H1 do H16) i 9 podtypów NA (od N1 do N9) u ptactwa wodnego. Wykazano, że jedynie podtypy H1N1, H2N2 i H3N2 wirusa grypy mogą brać udział w wywołaniu pandemii u ludzi. Jednakże wykazano, że zmiany w antygenowości wirusów głównie wiążą się z uszkodzeniami i zmianami w podtypach HA [16].

##### Główne objawy zakażenia wirusem grypy A H5N1

- W 58–90% przypadków udokumentowano kontakt z ptactwem domowym [23].
- Początek choroby następował po 3–4 dniach od ekspozycji [23].
- Głównym objawem było zapalenie płuc i stany gorączkowe [23].
- Bardzo ważnym objawem, często wyprzedzającym obraz grypy, były wolne stolce obserwowane u 42–70% chorych [23]. Ciężkie zaburzenia jelitowe obserwowano u 4 letniego chłopca w Wietnamie, którego siostra zmarła 2 tygodnie wcześniej w wyniku zakażenia wirusem H5N1 z objawami rozsia- nego zakażenia i zapalenia mózgu [6].
- Limfopenia i trombocytopenia są częstymi zmianami stwierdzanymi u większości zakażonych, co było obciążającym wskaźnikiem prognostycznym wskazującym na możliwość rozwoju ARDS i zgonu [4, 24].

- U wszystkich chorych stwierdzono zmiany w obrazie radiologicznym klatki piersiowej pod postacią nacieków miąższu płucnego, zajmującego cały płąt, z niedodmą i konsolidacją zmian oraz powietrznym bronchogramem. Odnę jamy opłucnej rozpoznano u chorych, którzy wymagali sztucznej wentylacji [19].
- Czas do ujawnienia się objawów ARDS wynosił 6 dni (średnio od 4 do 13 dni) od początku choroby [4].
- Śmiertelność w opisywanych dwóch seriach chorych w Wietnamie i Tajlandii wynosiła od 67 do 80% [25].
- Czas od początku choroby do zejścia śmiertelnego wahał się od 4 do 30 dni [23].
- Liczba przypadków bezobjawowych lub łagodnych zakażeń w stosunku do chorych z objawami zapalenia płuc jest dotychczas nieznana [25].

Szybka metoda rozpoznającą antygen wirusa oraz test odwrotnej transkrypcji PCR powinny być wykonywane z materiału uzyskiwanego z gardła (wymaz lub aspirat) umieszczanego w podłożu transportowym.

- Antygeny wirusa mogą być rozpoznane w metodzie immunofluorescencyjnej, enzymatyczno-immunologicznej lub w szybkim badaniu immunochromatograficznym. Czulość stosowanych testów waha się od 33,3% do 85,7% [4, 24].
- Odwrotna transkrypcja PCR jest najbardziej obiecująca w szybkim rozpoznawaniu wirusa ptasiej grypy [22]. Test można stosować do materiału uzyskiwanego z surowicy, płynu mózgowo-rdzeniowego, tkanek i wydzielin. Dodatni wynik badania jest wiążący i decyduje o rozpoznaniu zakażenia.

**Leczenie** powszechnie zalecane w zakażeniach wywołanych wirusem grypy A to stosowanie amantadyny i rimantadyny, a w zakażeniach wirusem grypy A i B – także inhibitorów neuraminidazy – oseltamiwiru i zanamiwiru. Stosowanie amantadyny i jej pochodnych nie jest rozważane jako leku skutecznego w stosunku do wirusów ptasiej grypy [16].

Ostatnie badania wskazują na zwiększanie oporności na inhibitory neuraminidazy [12]. Podnosi się, że może to mieć związek z specyficznością samej neuraminidazy. Wykazano, że wirus H5N1 wyizolowany w 1997 r. i w ostatnich zachorowaniach łatwo poddają się hamowaniu przez kontrolowane klinicznie stężenia inhibitorów neuraminidazy. Wyizolowano m.in. wirusy H5N1 odporne na oseltamiwir (75 mg podawane dwa razy dziennie) w Wietnamie i wykazano w nich obecność substytucji histydyny w miejsce tyrozyny w pozycji 274 białka neuraminidazy [8].

Szerokie stosowanie oseltamiwiru do leczenia grypy u dzieci prowadziło do zwiększenia ryzyka wytworzenia oporności na patogen [9]. Sugeruje się, że można spodziewać się rozprzestrzenienia się oporności na lek w przypadku szerokiego stosowania go w celach profilaktycznych i leczniczych. Oczekuje się więc na nowe leki, które wykazywałyby działanie przeciw-wirusowe.

## 5. Skutki zakażeń wirusowych

Skutki użycia broni biologicznej były analizowane w pozorowanych scenariuszach i symulacjach ataków broni biologicznej. Z kolei scenariusz naturalnych zakażeń dopisuje dalszą część możliwych pandemii.

- Zakażenie wirusem ospy może być rozpoznane dopiero 16 dnia od użycia patogenu. W czasie pierwszego miesiąca choroby można rozpoznać około 700 chorych przy 30% śmiertelności, a po upływie 75 dni – ok. 75 000 chorych i ok. 2000 zgonów. Należy podkreślić, że po 2 tygodniach trwania choroby wyczerpaniu ulegną wszystkie zapasy szczepionki, a do dyspozycji pozostaną jedynie metody izolacji [3, 7, 17].
- W 20 wieku 3 pandemie grypy łącznie zabiły więcej ludzi niż naturalne i spowodowane przez ludzi katakлизmy, włącznie z I i II wojną światową. Z tego też powodu właśnie grypę uznano za najbardziej śmiertelnością ostrą chorobę zakaźną w dziejach ludzkości [16].
- Zachorowania na SARS pojawiły się w 32 krajach. Stwierdzono 8422 przypadki i 916 zgonów [13]. Szybkemu szerzeniu się epidemii sprzyjała możliwość przemieszczania się zakażonych osób drogą lotniczą. Udało się ją opanować w ciągu 7 miesięcy od rozpoczęcia. Od lipca 2003 roku występowały tylko przypadki sporadyczne [27].

Pozostaje mieć nadzieję, że postęp w zakresie farmakologii będzie następować konsekwentnie i z uwzględnieniem postępu w zakresie nauk mikrobiologicznych.

## Piśmiennictwo

1. Centers for Disease Control and Prevention: Update: outbreak of severe acute respiratory syndrome – worldwide. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **52**, 241–248 (2003)
2. Clement J., Heyman P., McKenna P. i wsp.: The hantaviruses of Europe: from the bedside to the bench. *Emerg. Infect. Dis.* **3**, 205–11 (1997)
3. Chomiczewski K.: Współczesne poglądy na zagrożenie bronią biologiczną. *Lek. Wojsk.* **78**, 5–9 (2002)
4. Chotpitayasunondh T., Ungchusak K., Ilangshaoarakul W. et al.: Human disease from influenza A (H5N1), Thailand, 2004. *Emerg. Infect. Dis.* **11**, 201–209 (2005)
5. Davoust B., Marie J.L., Ringot D. i wsp.: Exposition des militaires aux zoonoses. Enquetes sur des animaux sentinelles, reservoirs et vecteurs. *Med. Arm.* **32**, 30–40 (2004)
6. de Jong M.D., Bach V.C., Phan T.Q i wsp.: Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting with diarrhea followed by coma. *N. Engl. J. Med.* **353**, 686–691 (2005)
7. Goroux J.N.: Generalites sur l'arme biologique. *Med. Arm.* **29**, 381–93 (2001)
8. Le Q.M., Kiso M., Someya K. i wsp.: Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. *Nature*, **437**, 1108 (2005)
9. Liem N.T., Lim W.: World Health Organization International Avian Influenza Investigation Team, Vietnam. Lack of H5N1 avian influenza transmission to hospital employees, Hanoi. *Emerg. Infect. Dis.* **11**, 210–215 (2005)
10. Liu C-L., Lu Y-T., Peng M-J. i wsp.: Clinical and laboratory features of severe acute respiratory syndrome vis-a-vis onset of fever. *Chest*, **126**, 509–517 (2004)
11. Marra M.A., Jones S.J.M., Astell C.R. i wsp.: The genome sequence of the SARS-associated coronavirus. *Science*, **300**, 1399–1404 (2003)
12. McKimm-Breschkin J., Trivedi T., Hampson A. et al.: Neuraminidase sequence analysis and susceptibilities of influenza virus clinical isolates to zanamivir and oseltamivir. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 2264–2272 (2003)
13. Mulic R., Ropac D.: Epidemiologic characteristics and military implications of hemorrhagic fever with renal syndrome in Croatia. *Croat. Med. J.* **43**, 581–586 (2002)
14. Peiris J.S.M., Chu C.M., Cheng V.C.C. i wsp.: Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet*, **361**, 1767–1772 (2003)
15. Peiris J.S.M., Chu C.M., Cheng V.C.C. i wsp.: Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *Lancet*, **361**: 1767–1772 (2003)
16. Perez D., Sorrell E.M., Donis R.O.: Avian influenza. An omnipresent pandemic treat. *Ped. Infect. Dis. J.* **24**, S208–S216 (2005)
17. Plusa T., Jahnz-Różyk K.: Broń biologiczna. Zagrożenie i przeciwdziałanie. Medpress, Warszawa 2002.
18. Poutanen S.M., Low D.E., Henry B.: Identification of severe acute respiratory syndrome in Canada. *NEJM*, **348**, 1995–2005 (2003)
19. Rota P.A., Oberste M.S., Monroe S.S. i wsp.: Characterization of a novel coronavirus associated with the severe acute respiratory syndrome. *Science*, **300**, 1394–1399 (2003)
20. Ruan Y-J, Wel C.L., Ee L.A. i wsp.: Comparative full-length genome sequence analysis of 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection. *Lancet*, **361**, 1779–1785 (2003)
21. Slemons R.D., Easterday B.C.: Virus replication in the digestive tract of ducks exposed by aerosol to type A influenza. *Avian Dis.* **22**, 367–377 (1978)
22. Spackman E., Senne D.A., Myers T.J. i wsp.: Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. *J. Clin. Microbiol.* **40**, 3256–3260 (2002)
23. The Writing Committee of the World Health Organization (WHO) Consultation on Human Influenza A/H5. Avian influenza A (H5N1) infection in humans. *N. Engl. J. Med.* **353**, 1374–1385 (2005)
24. Tran T.I.L., Nguyen T.L., Nguyen T.D. i wsp.: Avian influenza A (H5N1) in 10 patients in Vietnam. *N. Engl. J. Med.* **350**, 1179–1188 (2004)
25. Wong S.Y., Yuen K-Y.: Avian influenza virus infections in human. *Chest*, **129**, 156–168 (2006)
26. World Health Organisation: Acute respiratory syndrome in China – update 3: disease outbreak reported. Geneva: February 2003. (Accessed April 22, 2003, at [http://www.who.int/csr/don/2003\\_2\\_20/en](http://www.who.int/csr/don/2003_2_20/en))
27. World Health Organisation. Case definition for surveillance of severe acute respiratory syndrome (SARS). Revised 2003 May 1. Available: [www.who.int/csr/sars/casedefinition/en](http://www.who.int/csr/sars/casedefinition/en)
28. Voelker R.: Surviving Ebola. *JAMA*, **281**, 18 (1999)
29. Zaiki S.R.: A novel immunohistochemical assay for the detection of Ebola virus in skin: implications for diagnosis, spread and surveillance of Ebola hemorrhagic fever. *J. Infect. Dis.* **179** (suppl. 1), S36–47 (1999)

Tomasz Chmielewski

Samodzielna Pracownia Riketsji, Chlamydii i Krętków Odzwierzęcych, Państwowy Zakład Higieny,  
ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa, tel. 022 5421261, e-mail: tchmielewski@pzh.gov.pl

**Streszczenie:** Riketsjozy to grupa ostrych chorób gorączkowych wywoływanych przez różne gatunki bakterii należące do rzędu Rickettsiales. W obrębie tej grupy zakażeń można wyróżnić riketsjozy znane od wielu lat, a także odkryte stosunkowo niedawno, dzięki nowoczesnym technikom diagnostycznym opartym głównie na PCR i hodowlach w liniach komórkowych. W pracy przedstawiono sytuację epidemiologiczną najczęściej występujących riketsjoz.

1. Dury wysypkowe i gorączki plamiste. 2. Gorączka Q. 3. Ludzka granulocytarna ehrlichioza (anaplazmoza) 4. Bartonelozy. 5. Podsumowanie

#### Old and new rickettsioses

**Abstract:** Rickettsioses represent some of the oldest and most recently recognized infectious diseases. Employment of molecular biological methods, based predominantly on PCR and improved cell culture techniques allowed to discover new pathogens of the genus *Rickettsiales*. Recent epidemiological situation of most prevalent rickettsioses in the world and in Poland are reviewed.

1. Typhus and spotted fever group. 2. Q-fever. 3. Human granulocytic ehrlichiosis. 4. Bartonellosis. 5. Summary

---

**Słowa kluczowe:** riketsjozy, bartoneloza, anaplazmoza, gorączka Q

**Key words:** rickettsioses, bartonellosis, anaplasmosis, Q fever

---

## 1. Dury wysypkowe i gorączki plamiste

Riketsjozy to grupa ostrych chorób gorączkowych wywoływanych przez różne gatunki bakterii należące do rzędu *Rickettsiales*. W obrębie tej grupy zakażeń można wyróżnić riketsjozy znane od wielu lat, a także odkryte stosunkowo niedawno. Do riketsjoz zaliczamy grupę durów wysypkowych (dur wysypkowy epidemiczny, sporadyczny i dur szczurzy) oraz grupę gorączek plamistych (gorączka plamista Gór Skalistych, gorączka śródziemnomorska, północnoazjatycka gorączka kleszczowa, ospa riketsjowa, dur kleszczowy z Queensland i dur zaroślowy). Oprócz znanej od dawna gorączki śródziemnomorskiej wywoływanej przez *R. conori*, wyizolowano i opisano nowe gatunki takie jak *R. japonica*, *R. israelii* czy *R. slovaca*. Ponadto do grupy riketsjoz zaliczamy zakażenia wywoływane przez drobnoustroje z rodzaju *Coxiella*, *Bartonella* i *Anaplasma*.

Dur wysypkowy epidemiczny (wywoływany przez *R. prowazekii*) szerzący się podczas wojen i klęsk żywiołowych obecnie występuje sporadycznie. Objawy kliniczne to przede wszystkim silny ból głowy, ból mięśni i wysoka gorączka, wysypka plamista początkowo na tułowiu, a następnie na całym ciele. Przebieg choroby jest bardzo ciężki z zaburzeniami świadomości i uszkodzeniem układu krążenia. U osób

które przechorowały dur wysypkowy epidemiczny lub które miały kontakt z osobami chorymi zdarzają się nawroty pod postacią choroby Brill-Zinssera, która cechuje się znacznie łagodniejszym przebiegiem. Obecnie epidemie duru wysypkowego występują wśród ludności na terenach o niskim poziomie ekonomicznym, któremu towarzyszą zaniedbania higieniczne. Podobnie dur szczurzy (*R. mooseri*), dotyczy przede wszystkim biednych rejonów świata, często występuje w obozach dla uchodźców.

Gorączki plamiste są wywoływane przez różne gatunki riketsji, których występowanie wiąże się z określonymi rejonami geograficznymi. Najbardziej znane to gorączka śródziemnomorska (*R. conori*) opisana w 1909 roku i gorączka plamista Gór Skalistych (*R. rickettsii*) opisana w 1899 r. Nowe riketsjozy opisane w ostatnim dwudziestolecu to japońska gorączka plamista (*R. japonica*), gorączka plamista wyspy Flindersa (*R. honei*), kleszczowa gorączka afrykańska (*R. africae*), riketsjoza kalifornijska (*R. felis*), TIBOLA (*R. slovaca*). Ponadto nowe riketsjozy wywoływane przez *R. helvetica*, *R. heilonjiangensis*, *R. aeschlimannii*, *R. parkeri* nie zostały jeszcze nazwane. Zakażenie przenoszone jest przez wektor który stanowią różne gatunki kleszczy. Większość z nich charakteryzuje się wystąpieniem w miejscu ukłucia przez kleszcza zmiany martwiczej w postaci czarnego strupa (oprócz gorączki plamistej Gór Skalistych) z powiększeniem okolicznych węzłów chłonnych i wysoką gorączką, a po kilku dniach wysypki plamistej.

Lekami z wyboru w leczeniu ricketzjoz są doksy-cyklina ( $2 \times 100$  mg), tetracyklina ( $4 \times 500$  mg) lub chlor- amfenikol ( $4 \times 500$  mg) podawane przez 10–14 dni. Są one zalecane w durze szczyrim oraz durze wysypko- wym. U dzieci zalecane jest zastosowanie klarytromycy- ny lub azytromycyny. W leczeniu gorączki śródziemno- morskiej długość trwania kuracji może być różna, od jednorazowego podania do 10 dni. Nie stwierdzono np. różnic w normalizacji gorączki po jednorazowym podaniu 200 mg doksyicyliny w porównaniu z pełną kuracją tym antybiotykiem. Podobną skuteczność wy- kazała ciprofloksacyna ( $2 \times 750$  mg). Dłuższy okres gorączkowy, średnio o jeden dzień, stwierdzono po za- stosowaniu tetracykliny oraz ofloksacyny ( $2 \times 500$  mg). U dzieci oraz kobiet w ciąży dobre efekty daje kuracja jozamicyną (100 mg/kg/dzień) [8, 9].

## 2. Gorączka Q

Gorączka Q jest szeroko rozpowszechnioną w świe- cie zoonozą. Jej rezerwuar stanowią zwierzęta hodow- lane krowy, owce, kozy ale także domowe takie jak psy czy koty. Stałym rezerwuarem w środowisku natu- ralnym są kleszcze. Źródłem zakażenia jest mocz, kał, mleko, wody płodowe i łożysko podczas porodu oraz narządy wewnętrzne i mięso pochodzące od zakażo- nych zwierząt. *C. burnetii* może przetrwać w wydali- nach długi okres i być przenoszone w postaci aerozolu. Do zakażenia dochodzi najczęściej drogą wziewną, rzadziej pokarmową, przez naruszenie ciągłości tkanki czy drogą płciową. Ostra gorączka Q przebiega pod postacią atypowego zapalenia płuc z towarzy- szącą wysoką temperaturą ciała, dreszczami, bólami głowy i mięśni, suchym kaszlem. Przewlekłe zakaże- nie charakteryzuje się zapaleniem wsierdzia, które jest schorzeniem bardzo poważnym. Często stwierdzane jest także uszkodzenie wątroby, która jest powiększo- na i tkliva, z podwyższonymi poziomami aminotrans- feraz we krwi [6].

Ogniska epidemiczne gorączki Q, mimo że ich liczbę znacznie ograniczono, występują nadal na terenie Polski. Ostatnie takie ogniska stwierdzono w 2004 roku na południu Polski w rejonach Żywca, Oświęcimia i Osieka.

W leczeniu ostrej gorączki Q zaleca się podjęcie antybiotykoterapii w ciągu pierwszych 3 dni choroby. Lekami z wyboru są tetracykliny ( $4 \times 500$  mg) i doksy- cyklina ( $2 \times 100$  mg) podawane przez 7–14 dni lub przez 3 dni po uzyskaniu normalizacji temperatury ciała [4]. Erytromycyna nieskuteczna w badaniach *in vitro*, może stanowić alternatywę dla leczenia tetra- cyklinami. Przewlekła gorączka Q pod postacią za- palenia mięśnia sercowego wymaga długiego leczenia tetracyklinami (miesiące i lata) i jest jedną z najdłużej

trwających antybiotykoterapii w chorobach bakteryj- nych. Nierzadko kończy się ona niepowodzeniem lub nawrotami. Doksyicyklina ( $2 \times 100$  mg) z chlorochiną ( $3 \times 200$  mg) przez 18 miesięcy jest obecnie obowiązują- jący schematem leczenia przewlekłej gorączki Q.

## 3. Ludzka granulocytna ehrlichioza (anaplazmoza)

Bakterie z rodzaju *Anaplasma phagocytophilum* (dawniej *Ehrlichia phagocytophilum*) jak i *Ehrlichia chaffensis* były uważane za czynnik etiologiczny zaka- żeń występujących u przeżuwaczy. Początkiem inten- sywnych badań nad tymi drobnoustrojami były przy- padki występowania choroby o tej etiologii wśród ludzi stwierdzone w latach 90-tych. Ich efektem były zmiany w systematyce tych bakterii oraz dokładna charaktery- styka chorobotwórczości i epidemiologii tych zakażeń. Ehrlichioza jest ostrą chorobą zakaźną wywoływa- ną przez dwa gatunki bakterii: *Ehrlichia chaffensis* oraz *Anaplasma phagocytophilum*. Gatunki te należą do bezwzględnych pasożytów wewnątrzkomórkowych krwinek białych. *Ehrlichia chaffensis* bytuje głównie w makrofagach i monocytach wywołując ludzką mono- cytarną ehrlichiozę (human monocytic ehrlichiosis – HME) występującą na terenie Ameryki Północnej i na dalekim wschodzie, natomiast *Anaplasma phago- cytophilum* znajdująca jest w granulocytach obojętno- chłonnych i odpowiedzialna jest za ludzką granulocy- tarną ehrlichiozę (anaplazmoza) wykrywaną w Europie. Wektorem przenoszącym zakażenie *A. phagocytophi- lum* na człowieka są w Europie kleszcze z rodzaju *Ixo- des*, a w Ameryce Północnej zakażenie *Ehrlichia chaf- fensis* przenoszą kleszcze z rodzaju *Amblyoma* [2, 7].

Mało charakterystyczne objawy kliniczne stwarza- ją trudności w prawidłowym ukierunkowaniu badań diagnostycznych. Najczęściej obserwuje się objawy grypopodobne takie jak wysoka gorączka, bóle mięs- ni, stawów, osłabienie, bóle i zawroty głowy, wymioty, biegunkę, a także powiększenie wątroby i śledziony. U części chorych może wystąpić zapalenie płuc z zabu- rzeniami oddychania, niewydolność nerek oraz objawy neurologiczne z zaburzeniami świadomości. Przebieg zakażenia i nasilenie objawów może mieć różny charak- ter, od bezobjawowych do bardzo ciężkich przypadków zakończonych zgonem szczególnie u osób z obniżoną odpornością lub innymi ciężkimi chorobami autoimmunologicznymi oraz u osób starszych. Śmiertelność waha się w granicach 2–10%. W Polsce ludzką granulocy- tarną anaplazmozę stwierdza się od 2001 roku [10].

W badaniach dodatkowych często stwierdza się trombocytopenię, leukopenię i podwyższoną aktywność aminotransferaz. W preparacie rozmazu krwi obwodo- wej barwionym metodą Wrighta lub Giemsa u około

62% chorych w pierwszym tygodniu choroby stwierdza się w badaniu mikroskopowym morule, czyli zlepki komórek w cytoplazmie leukocytów. Rzadziej występuje zwiększony poziom białka CRP. W leczeniu ludzkiej granulocytarnej erlichiozy (HGE) jak i ludzkiej monocytarnej erlichiozy (HME) lekami z wyboru są doksycyklina i tetracyklina do 14 dni. Długość stosowanej antybiotykoterapii ma znaczenie dla całkowitego wyleczenia zarówno erlichiozy jak i ewentualnego zakażenia krętkami *Borrelia burgdorferi*, których wspólnym wektorem są kleszcze [1].

#### 4. Bartonelozy

Bartonelozy to grupa chorób wywoływana przez *Bartonella henselae* i *Bartonella quintana* (dawna nazwa *Rochalimea quintana*). W czasie I wojny światowej drobnoustroje te były czynnikiem etiologicznym gorączki okopowej (pięciodniowej), obecnie są odpowiedzialne za wywoływanie choroby kociego pazura. Zakażenie następuje w wyniku zadrapania lub ugryzienia przez kota nosiciela bądź przez pchły kocie (*Ctenocephalides felis*). Charakteryzuje się ona powiększeniem jednego lub kilku, najbliższych miejsca wniknięcia drobnoustrojów, węzłów chłonnych. W ciągu 2–3 tygodni mogą one osiągnąć średnicę kilku – kilkunastu centymetrów, skóra nad nimi jest zaczerwieniona i nadmiernie ucieplona. Cały proces trwa około 2–3 miesiące, powiększone węzły stopniowo ulegają zmniejszeniu, na ogół nie wymagają interwencji chirurgicznej. Inne ciężkie postaci choroby takie jak naczyńniakowatość (bacillary angiomatosis), płamica wątrobowa (peliosis hepatitis) opisywane są głównie u osób z obniżoną odpornością (chorzy na AIDS, bezdomni alkoholicy, biorcy przeszczepów) [3, 5].

Leczenie bartoneloz, zależnie jest od postaci choroby jak i stanu układu odpornościowego chorych, polega najczęściej na połączeniu dwóch lub trzech antybiotyków. Choroba kociego pazura nie wymaga włączenia leczenia ze względu na to, że zakażenie to ma tendencję do samoograniczenia. Zalecane jest ono w przypadkach rozległej limfadenopatii i polega na podaniu azytromycyny (pierwszego dnia 500 mg, a następnie przez 5 dni po 250 mg) (Rolain). W zapaleniu wsierdza w przebiegu bartonelozy skuteczną terapią było podawanie aminoglikozydów nie krócej niż przez 14 dni co zapobiegało nawrotom jak i zmniejszało śmiertelność (Ra-Fou). W leczeniu naczyńniakowatości (bacillary angiomatosis) skuteczna okazała się erytromy-

cyna (4×500 mg przez 3 miesiące), lub doksycyklina (2×100 mg przez 3 miesiące), jednak dłuższe leczenie należy rozważać u HIV-dodatnich oraz u osób z obniżoną odpornością. U osób z płamicą wątrobową w przebiegu bartonelozy, zalecana jest również erytromycyna lub doksycyklina w tych samych dawkach lecz w kuracji wydłużonej do 4 miesięcy. W zapaleniu siatkówki rekomendacje obejmują leczenie doksycykliną (2×100 mg) z ryfampicyną (2×300 mg) przez 4 do 6 tygodni [3].

#### 5. Podsumowanie

Przypadki występowania riketsjoz u ludzi rejestrowane są na całym świecie. Choroby te mają znaczący udział w grupie chorób gorączkowych o nie znanej etiologii. Świadomość ich wystąpienia powinna być zawsze tam, gdzie występują trudne warunki bytowe i związane z nimi zaniedbania sanitarne (grupa durów wysypkowych), ale nie tylko. Mogą one także stanowić zagrożenie dla osób podróżujących po krajach egzotycznych (liczna grupa starych i nowych gorączek plamistych), jak również dla zwykłych hodowców i posiadaczy zwierząt domowych.

#### Piśmiennictwo

1. Bakken J.S., Dumler J.S. Ehrlichia species. In: Yu V., Merigan T., Barriere S. Antimicrobial therapy and vaccines. Williams and Wilkins, Baltimore, 546–51 (1998)
2. Bakken J.S., Dumler J.S. Human granulocytic ehrlichiosis. *Clin. Infect. Dis.* **31**, 554–60 (2000)
3. Conrad DA. Treatment of cat-scratch disease. *Curr. Opin. Pediatr.* **13**, 56–9 (2001)
4. Gikas A., Kofteridis D.P., Manios A., Padiaditis J., Tselentis Y. Newer macrolides as empiric treatment for acute Q fever infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 3644–46 (2001)
5. Greub G., Raoult D. Bartonella: new explanations for old diseases. *J. Med. Microbiol.* **51**, 915–923 (2002)
6. Maurin M., Raoult D. Q fever. *Clin. Microbiol. Rev.* **12**, 518–553 (1999)
7. Paddock C.D., Childs J.E. Ehrlichia chaffensis: a prototypical emerging pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* **16**, 37–64 (2003)
8. Parola P., Davoust B., Raoult D. Tick and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Vet Res.* **36**, 469–492 (2005)
9. Parola P., Paddock C.D., Raoult D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clin. Microbiol. Rev.* **18**, 719–56 (2005)
10. Tylewska-Wierzbanowska S., T. Chmielewski, M. Kondrusik, T. Hermanowska-Szpakowicz, W. Sawicki, K. Sulek: First cases of acute Human Granulocytic Ehrlichiosis in Poland. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **20**, 196–198 (2001)



Marian Binek, Borys Błaszczak

Zakład Bakteriologii i Biologii Molekularnej, Katedry Nauk Przedklinicznych, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej,  
SGGW w Warszawie, ul. Ciszewskiego 10, 02-786 Warszawa, e-mail: biniek@alpha.sggs.waw.pl

1. Wstęp. 2. Chorobotwórczość wynikająca z penetracji do komórki. 3. Zakażenie miejscowe. 4. Zakażenie uogólnione. 4.1. Namnażanie się i przeżywanie w makrofach. 4.2. Śmierć makrofachów. 5. Przetrwanie w komórkach gospodarza. 6. Podsumowanie

### Mechanisms of *Salmonella* infection

**Abstract:** The Peyer's patches are the main port of entry for *Salmonella* serovars. Pathogenicity of these bacteria depends on their ability to invade epithelial cells. *Salmonella* produces one set of virulence proteins to promote invasion of the intestine and a different set to mediate systemic disease. The major factor for intestinal penetration is encoded by genes clustered on the chromosome, termed *Salmonella* pathogenicity island 1 (SPI-1). SPI-1 locus encodes a type III protein secretion system (TTSS) that delivers effector proteins required for intestinal invasion and production of enteritis. These effectors activate signalling pathways that lead to extensive actin polymerization and plasma membrane ruffling, resulting in uptake of the bacteria into the host epithelial cell. Inside epithelial cells *Salmonella* survives and replicates within a unique phagosome, the *Salmonella*-containing vacuole SAC. The second specific DNA region that is essential for systemic infection (survival/replication in phagocytic cells) is SPI-2 which encodes separate TTSS. The SPI-2 effector proteins are known to confer the ability of *Salmonella* strains to proliferate within macrophages leading to progressive infection. Another virulence locus associated with *Salmonella* systemic infection is *spv*, located on a large virulence plasmid. The *spvB* gene has been found to encode a mono ADP-ribosyl transferase that modifies actin and increases the rate of intracellular replication in macrophages. The SPI-1 effector SipB, *spvB* activates caspase-1 in macrophages, inducing rapid cell death by a mechanism that includes, features of both apoptosis and necrosis. Intracellular secretion of virulence effector proteins by SPI-2 TTSS facilitates growth of *Salmonella* in these macrophages and the delayed onset of apoptosis in extraintestinal tissues. *Salmonella* may intentionally limit their proliferation in host tissues to prevent overt-damage to the host and establish persistency in macrophages. The bacteria could regulate this process from the very early stages of proliferation by pathogens activity, that alter the pattern of expression of distinct virulence traits together with factors required to cope with host defenses. The occurrence of subsequent events such as apoptosis and /or stimulation of distinct host cell defences may result in state of low proliferation within the host cells.

1. Introduction. 2. Penetration of the host cells essential for virulence. 3. Localized infection. 4. Systemic infection. 4.1. Replication and survival in the host macrophages. 4.2 Death of the macrophages 5. Persistence in the host cells. 6. Summary

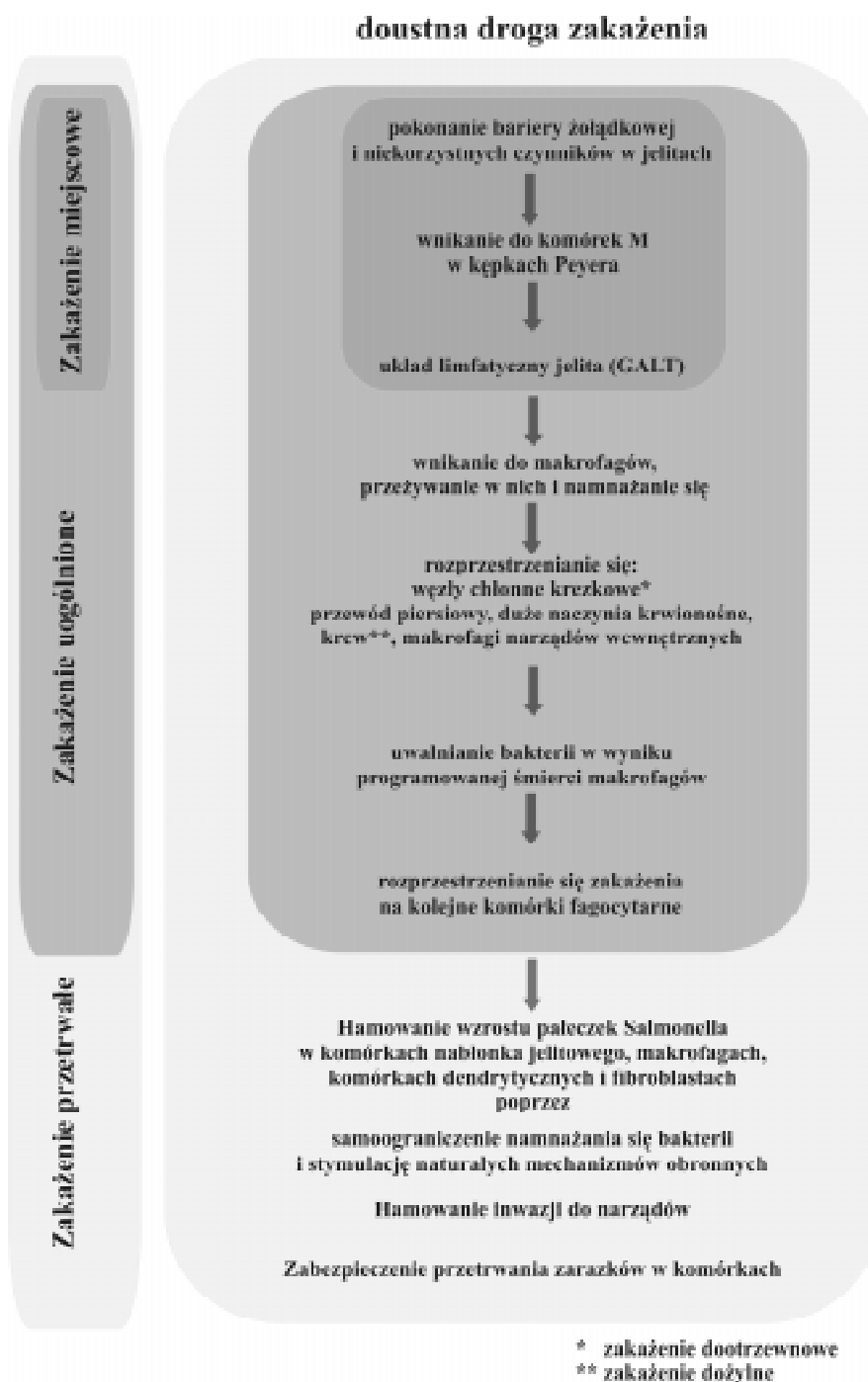
**Słowa kluczowe:** *Salmonella*, czynniki zjadliwości, zakażenia przetrwałe

**Key words:** *Salmonella*, virulence factors, persistency

## 1. Wstęp

Pałeczki *Salmonella*, które przedostają się do organizmu człowieka czy zwierząt droga pokarmową, napotyka na swojej drodze określone bariery chroniące gospodarza przed zakażeniem. Jedną z pierwszych jest niskie pH żołądka doprowadzające do śmierci lub uszkodzenia zdecydowanej większości komórek bakterii. Niskie pH indukuje również w niektórych komórkach *Salmonella* mechanizmy naprawcze pozwalające na zachowanie homeostazy, oporność na kwas żołądkowy, a także naprawę powstałych w komórce uszkodzeń. Bakterie, które przeżyły przechodząc do kolejnej części jelit cienkich, również i w tym środowisku spotykają się z bakteriostatycznym oddziaływaniem

wielu substancji, jak np. kwasów żółciowych, czy też są usuwane wraz z treścią przez ruchy perystaltyczne jelit. Z doświadczeń przeprowadzonych na myszach, którym podawano doustnie *Salmonella* Enteritidis wynika, że ponad 80% bakterii, które przedostały się z żołądka do jelit jest następnie wydalana wraz z kałem. Większość z pozostałych bakterii znajduje się w świetle jelita ślepego i jelit grubych, a tylko kilka procent wnika do komórek nabłonka jelitowego, głównie jelita biodrowego. Ważną barierą chroniącą gospodarza przed zakażeniem tymi bakteriami jest również jego własna mikroflora w istotny sposób zapobiegająca kolonizowaniu jelit przez inwazyjne mikroorganizmy [8, 9, 37]. W odpowiedzi na te i inne niekorzystne czynniki środowiskowe oddziałujące na komórki *Salmonella*, bakterie te przez miliony lat ewolucyjnego rozwoju wypracowały strategię ucieczki do komórek nabłonka jelitowego, penetracji i przetrwania w wybranych ko-

Rys. 1. Przebieg zakażenia pałeczkami *Salmonella*

mórkach fagocytujących oraz uwolnienia się z nich w różnych miejscach organizmu w sprzyjających okolicznościach (Rys. 1) [1, 2, 18, 45].

Obecne w jelitach pałeczki *Salmonella* w sposób preferencyjny dążą do grudek chłonnych umiejscowionych w ścianie jelita biodrowego zgrupowanych u ssaków w kępkach Peyera. Jaki jest mechanizm tego tropizmu nie jest do końca wiadomo. Wiadomo natomiast, że w części nabłonka jelitowego pokrywającego kępki Peyera FAE (ang. follicle-associated epithelium) nie ma komórek kubkowych, natomiast obecne są komórki M.

Ich liczba jest różna u różnych gatunków ssaków i tak, np. u człowieka i myszy stanowią od 5–10% FAE, a u bydła nawet 100% [1, 2, 9, 39]. Apikalna część komórek M zawiera wiele glikoprotein różniących się strukturalnie od białek sąsiadujących enterocytów. Powierzchnia tych komórek różni się wieloma właściwościami od powierzchni enterocytów pokrywających kosmki jelitowe, między innymi unikatowym wzorem glikozylacji występujących tam białek, które prawdopodobnie spełniają funkcje przyciągania pałeczek *Salmonella* do tych miejsc. Wydaje się więc, że pierw-

szym etapem kolonizacji komórek nabłonka jelitowego w obrębie kępki Peyera jest adhezja bakterii do swoich struktur na powierzchni enterocytów. U niektórych *Salmonella* występują specyficzne dla nich fimbrie, jak np. długie fimbrie polarne Lpf, fimbrie Pef czy Sef typowe dla *Salmonella* Enteritidis, szczególnie u szczepów powodujących uogólnione zakażenie o ostrym przebiegu. W jakimś stopniu zależy również od nich powinowactwo różnych serowarów *Salmonella* do gospodarzy, ponieważ łączą się z glikokoniuugatami apikalnej części komórek M odpowiednio zmienionych na skutek glikozylacji. U różnych gatunków zwierząt obserwuje się ekspresję odmiennych glikoprotein na powierzchni komórek nabłonka jelitowego co niewątpliwie wpływa na selektywną adhezję do nich określonych serowarów *Salmonella* [8, 37, 54].

## 2. Chorobotwórczość wynikająca z penetracji do komórki

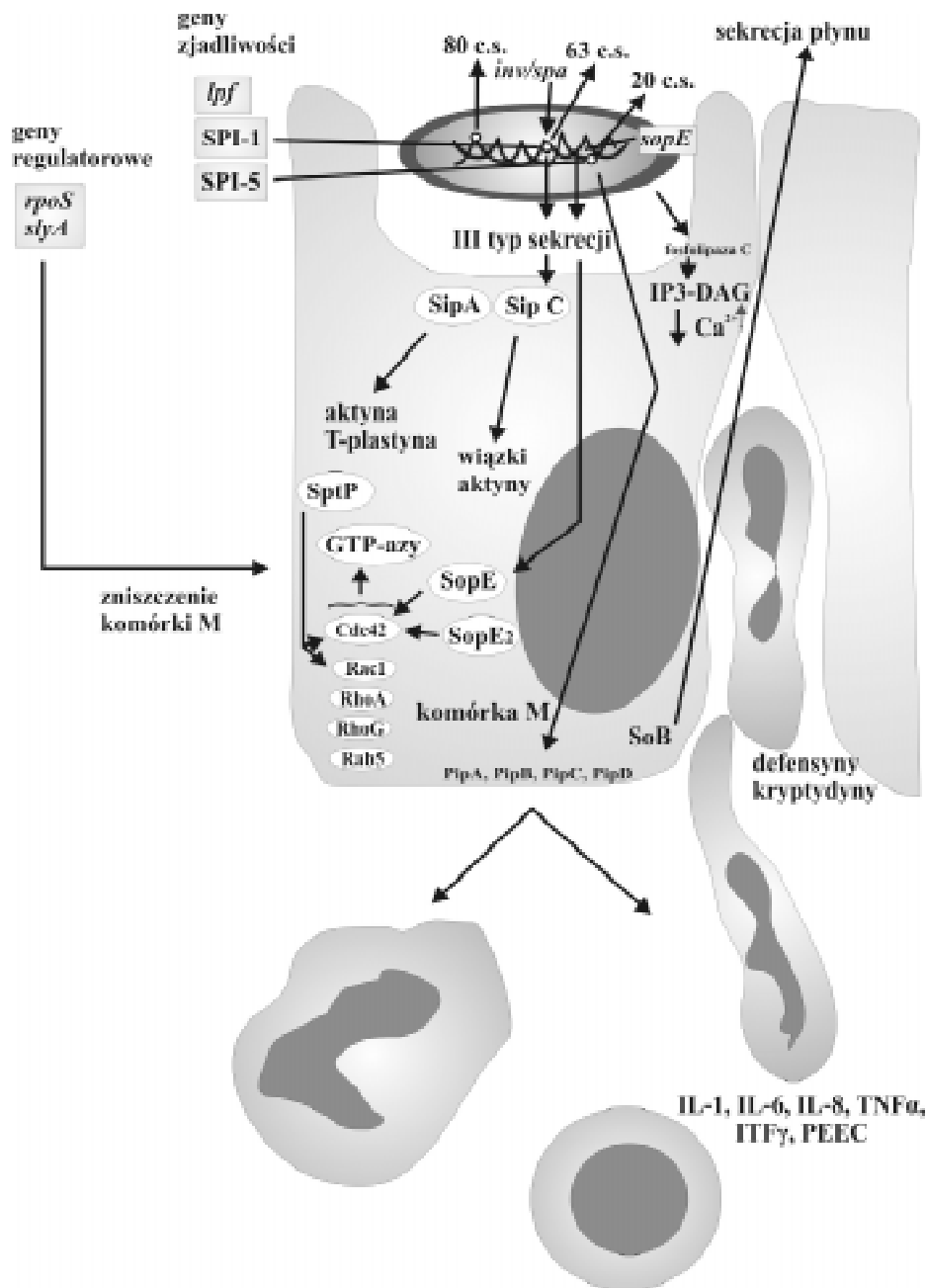
Dane z wielu prac dotyczących chorobotwórczości pałeczek *Salmonella* zdają się wskazywać na to, że wynika ona ze zdolności wnikania tych bakterii do komórek nabłonka jelitowego określonego gospodarza. Na poparcie tej tezy można przytoczyć wyniki jednego z doświadczeń, w którym myszom podawano przeciwciała monoklonalne klasy IgA skierowane przeciwko LPS *Salmonella* Typhimurium, a następnie zakażano wspomnianymi bakteriami. Okazało się, że u tych zwierząt w porównaniu do myszy z grupy kontrolnych liczba bakterii stanowiących LD<sub>50</sub> była 10 000 razy wyższa. Podobnie mutacja genu lub genów kodujących czynniki inwazyjności pałeczek *Salmonella*, w wyniku czego nie dochodziło do wnikania bakterii do komórek nabłonka jelitowego powodowała obniżenie lub całkowity brak zjadliwości bakterii [37]. Wyniki tych ostatnich doświadczeń wskazują równocześnie na złożony z wielu czynników mechanizm ich wnikania do komórek gospodarza, kodowany przez wiele różnych genów.

Czynniki uczestniczące we wnikaniu pałeczek *Salmonella* do komórek nabłonka jelitowego należą do czynników zjadliwości tych bakterii (Rys. 2). W większości z nich kodowane są przez geny *inv/spa* zgrupowane w genomie *Salmonella* w miejscu określonym jako pierwsza wyspa patogenności (SPI-1). Zlokalizowane tam geny kodują: białka regulatorowe, białka zaangażowane w utworzenie i uruchomienie aparatu sekrecji typu TTSS (ang. three type secretion system) i białka efektorowe eksportowane przez TTSS [36, 46, 47, 53, 54]. Ekspresja białek SPI-1 TTSS stymulowana jest czynnikami panującymi w środowisku jelit, jak np. wysoką osmolalnością, niskim stężeniem tlenu itp. Czynniki kodowane przez wspomniane geny przyczyniają się do wnikania pałeczek *Salmonella* do

komórek nabłonka jelitowego na drodze makropinocytozy. W wyniku adherencji bakterii do komórek gospodarza następuje uruchomienie TTSS, który dostarcza białka inwazyjności Sip A, i Sip C do komórek gospodarza, indukujące proces przebudowy ich cytoszkieletu. Sip A wiąże się bezpośrednio z aktywną i zwiększa jej polimeryzację. Aktywuje również powiązane z aktywną białko T-plastyne niezbędne do wnikania *Salmonella* do komórek gospodarza. Sip C przyczynia się do bezpośredniego wiązania się włókien aktynowych. Jest również niezbędne do translokacji białek efektorowych patogenu przez błonę plazmatyczną komórek gospodarza. Wierzchołkowa część błony komórkowej ulega marszczeniu. Jej wgłobienie obejmuje bakterie i zamyka w ten sposób w pęcherzyku endocytarnym nazywanym SCV (*Salmonella* containing vacuole) [17, 46, 47, 50, 59]. Dodatkowo w mechanizmie wnikania bakterii do komórki gospodarza uczestniczą inne białka efektorowe kodowane przez geny zlokalizowane w obrębie SPI-5 (*Salmonella* pathogenicity island 5) oraz przez gen *sopE* przenoszony przez faga wbudowującego się u *Salmonella* Typhimurium w region *smpB-nrdE*. Białko SopE i jego homolog SopE2 wstrzykiwane są do komórki gospodarza również za pośrednictwem TTSS. Funkcjonują jako czynniki wymiany nukleotydu guanylowego (GEFs). SopE aktywuje w ten sposób w komórkach gospodarza niskocząsteczkowe GTPazy Cdc42, Rac1, RhoA, RhoG i Rab5. SopE2 aktywuje tylko Cdc42. Utrata genów *sopE* i *sopE2* obniża inwazję bakterii do komórek gospodarza, co potwierdza ich znaczącą, ale nie nadrzędną rolę w tym procesie [7, 9, 16].

Trzecim białkiem reagującym z GTPazami, przede wszystkim Cdc42 i Rac1, translokowanym do komórki gospodarza również za pośrednictwem SPI-1 TTSS, jest białko SptP. Jego funkcja jest jednak odmienna od wcześniej opisanych, ponieważ po wniknięciu bakterii do komórki gospodarza inicjuje ono przemiany przywracające cytoszkielet do stanu pierwotnego. Można by więc powiedzieć, że dochodzi w ten sposób do zneutralizowania skutków inwazji i naprawienia wyrządzonych w komórkach gospodarza szkód [16]. W trakcie przemian prowadzących do marszczenia apikalnej części błony powstaje również kompleks określany jako Arp2/3 uczestniczący w inwazji bakterii do jej wnętrza. Mechanizm wyzwalający powstanie tego kompleksu nie jest do końca wyjaśniony. W doświadczeniach przeprowadzonych na komórkach linii HeLa z użyciem *Salmonella* Typhimurium wykazano, że drobnoustrój wykorzystuje również w tym procesie białka N-WASP i WAVE *via* Cdc42 i Rac. Współdziałanie wspomnianych białek przyczynia się z kolei do uaktywnienia kompleksu Arp2/3 [16].

Po kilku godzinach od wniknięcia pałeczek *Salmonella* do komórek gospodarza, wokół SCV tworzy



Rys. 2. Czynniki wytwarzane przez pałeczki *Salmonella* zaangażowane w reorganizację cytoszkieletu komórki M oraz doprowadzające do powstania odczynu zapalnego w miejscu zakażenia.

się sieć z włókien aktyny. Uważa się, że wpływają na to czynniki efektorowe kodowane przez geny SPI-2, uwalniane poza błonę pęcherzyka za pomocą aparatu sekrecji typu trzeciego, kodowanego również przez geny SPI-2 (SPI-2 TTSS-2) [19].

Wyniki kolejnych doświadczeń, w których między innymi dokonywano mutacji genów SPI-1 doprowadzając do obniżenia kolonizowania kępek Peyera, potwierdzają, że czynniki kodowane przez nie są niezbędne do wnikania pałeczek *Salmonella* do komórek M wchodzących w skład FAE. Wkrótce okazało się, że nie są jedynymi i udowodniono również niezależ-

ny od białek kodowanych przez SPI-1 wpływ na to zjawisko czynników kodowanych przez operon *lpf*. Lista czynników, które mogą mieć wpływ na wnikanie pałeczek *Salmonella* do komórek gospodarza nie jest zamknięta. W kolejnych doświadczeniach, w których podawano myszom duże dawki *Salmonella* Typhimurium, o obniżonej inwazyjności na skutek mutacji genu *lpfC*, a także genu *invA* SPI-1, uzyskano efekt śmiertelny. Udowodniono, w ten sposób, że istnieją jeszcze inne czynniki inwazyjności, które pozwalające na wnikanie pałeczek *Salmonella* do komórek nabłonka jelitowego [9].

### 3. Zakażenie miejscowe

Zakażenie niedurowymi i nieduropodobnymi pałeczkami *Salmonella* toczące się w obrębie przewodu pokarmowego przejawiają się zwykle ostrym zapaleniem żołądka i jelit (*gastroneteritis*). Jednakże tylko u 1/3 pacjentów występuje biegunka. Zwykle nie wiąże się tego objawu z wytwarzanymi przez bakterie toksynami, chociaż wiele z nich takie substancje produkuje. Z doświadczeń przeprowadzonych na cielętach nie wynika jednak, aby enterotoksyna wytwarzana przez pałeczki *Salmonella* powodowała biegunkę u tych zwierząt. Wydaje się więc, że do biegunki może dochodzić w wyniku toczącego się procesu zapalnego w jelicie [8, 23]. Interakcja zarazków z enterocytami powoduje uwalnianie produktów genów SPI-5. Są to białka SopB, PipA, PipB, PipC i PipD, transportowane do komórek gospodarza również za pomocą TTSS [36, 42]. Stymulują one sekrecję płynów oraz mobilizują leukocyty obecne w błonie śluzowej jelit. Inwazja zarazków do komórek nabłonka jelitowego indukuje wytwarzanie przez nie, a także przez leukocyty i limfocyty szeregu prozapalnych cytokin, jak IL-1, IL-6, IL-8, TNF $\alpha$ , ITF $\gamma$ , chemoatraktantu PEEC i innych powodujących rozwój ostrego zapalenia. Na skutek lokalnego wytwarzania prostaglandyn dochodzi także do aktywacji cyklicznej adenylowej i wzrostu cAMP, a w konsekwencji do sekrecji płynu do światła jelita. W procesie tym biorą również białka o aktywności enterotoksyn uwalniane za pomocą TTSS, jak np. białko kodowane przez gen *sopB*, wchodzący w skład SPI-5 u *Salmonella* Dublin. W wyniku adherencji i ich wnikania do komórek nabłonka jelitowego dochodzi do uwalniania przez nie IL-8 wpływającej na migracje do tego miejsca granulocytów obojętnochłonnych (PMN, ang. polymorphonuclear neutrophil). W odpowiedzi *Salmonella* uruchamia mechanizmy obronne w wyniku których dochodzi do: przebudowy warstwy lipopolisacharydowej ich ściany komórkowej zmniejszającej przepuszczalność dla bakteriobójczych białek (BPI, bactericidal/permeability increasing protein) uwalnianych przez neutrofile, a także wzrostu oporności na defensyny uwalniane przez granulocyty oraz kryptydyny produkowane przez komórki Paneta zlokalizowane w kryptach jelitowych [3, 22, 40, 53].

Wnikanie bakterii do komórek M doprowadza do ich zniszczenia oraz w konsekwencji do uszkodzenia FAE. Dzieje się to również przy udziale białek dostarczanych przy pomocy TTSS, jak np. InvC, InvA, SlyA i innych. Białko SlyA może mieć właściwości hemolityczne i pełni funkcje regulatorowe w stosunku do genów kodujących czynniki odpowiedzialne za przeżycie i uwalnianie się z SCV [15, 18, 23]. Bakterie mogą w ten sposób wydostać się z komórki, co jest koniecznym warunkiem do dalszej inwazji. Pałeczki

*Salmonella* mogą również być wydalane na zewnątrz komórek M na zasadzie egzocytozy i trafiają do układu limfatycznego jelita GALT (Gut-Associated Lymphoid Tissues)

Komórki fagocytykujące gospodarza przystępują do eliminacji bakterii z ogniska zapalnego, jak również uruchamiane są mechanizmy swoistej odpowiedzi immunologicznej w wyniku stymulacji limfocytów T i B. W przypadku małej liczby zarazków lub wykazujących małą zjadliwość, wyrzut komórek fagocytykujących z licznymi ziarnistościami ze szpiku kostnego, może całkowicie zahamować zakażenie na tym etapie. W przypadku dużej liczby bakterii, obdarzonych cechami zjadliwości na ogół dochodzi do rozprzestrzenienia się pałeczek *Salmonella* w układzie limfatycznym, a następnie za pośrednictwem makrofagów po całym organizmie [2, 3].

### 4. Zakażenie uogólnione

Najwięcej danych na temat uogólnionej formy salmonellozy pochodzi z badań przeprowadzonych na myszach, zakażanych *Salmonella* Typhimurium. Po doustnym podaniu dużej dawki tych bakterii już pierwszego dnia po zakażeniu bakterie obecne są w wątrobie i śledzionie, natomiast nie stwierdza się ich we krwi. Namnażają się głównie w komórkach fagocytykujących tych narządów zwiększając swoją liczbę od 0,5 do 1,5 log<sub>10</sub> dziennie. Po uwolnieniu się z nich przedostają się do krwi, gdzie gwałtownie ulegają namnożeniu i doprowadzają do śmierci gospodarza. Nie dzieje się to bez obrony ze strony zaatakowanego organizmu, który uruchamia wiele mechanizmów odpornościowych, jak np. aktywowanie układu dopełniacza, fagocytozy, odpowiedzi komórkowej i humoralnej. Jednakże na większość tych odpowiedzi, pałeczki *Salmonella* w strategii swojego przetrwania, wykształciły sposoby przeciwdziałania. I tak np. wiele serowarów tych bakterii wykazuje oporność na działanie dopełniacza. Wielocukrowe łańcuchy antygeny O, aktywują dopełniacz na drodze alternatywnej. Komponenty dopełniacza osadzają się na wystających na zewnątrz ściany komórkowej fragmentach tych łańcuchów, dzięki czemu zmniejsza się liczba cząsteczek atakujących osłony komórkowe. U niektórych *Salmonella* oporność na dopełniacz dodatkowo wzmagana jest syntezą kodowanego przez geny obecne w plazmidzie białka Rck, zapobiegającego wiązaniu się dopełniacza ze ścianą komórkową bakterii [40].

Niewątpliwie zdolność do wywoływania przez pałeczki *Salmonella* zakażenia uogólnionego wynika z ich właściwości namnażania się w makrofagach i przeżywania w nich, uwarunkowanego białkami kodowanymi przez geny SPI-2 i eksportowanymi przy pomocy TTSS-2. Warunkiem rozprzestrzenienia się zakażenia

jest uwolnienie się drobnoustrojów z makrofagów, co następuje w następstwie ich śmierci indukowanej przez bakterie [11, 25, 38].

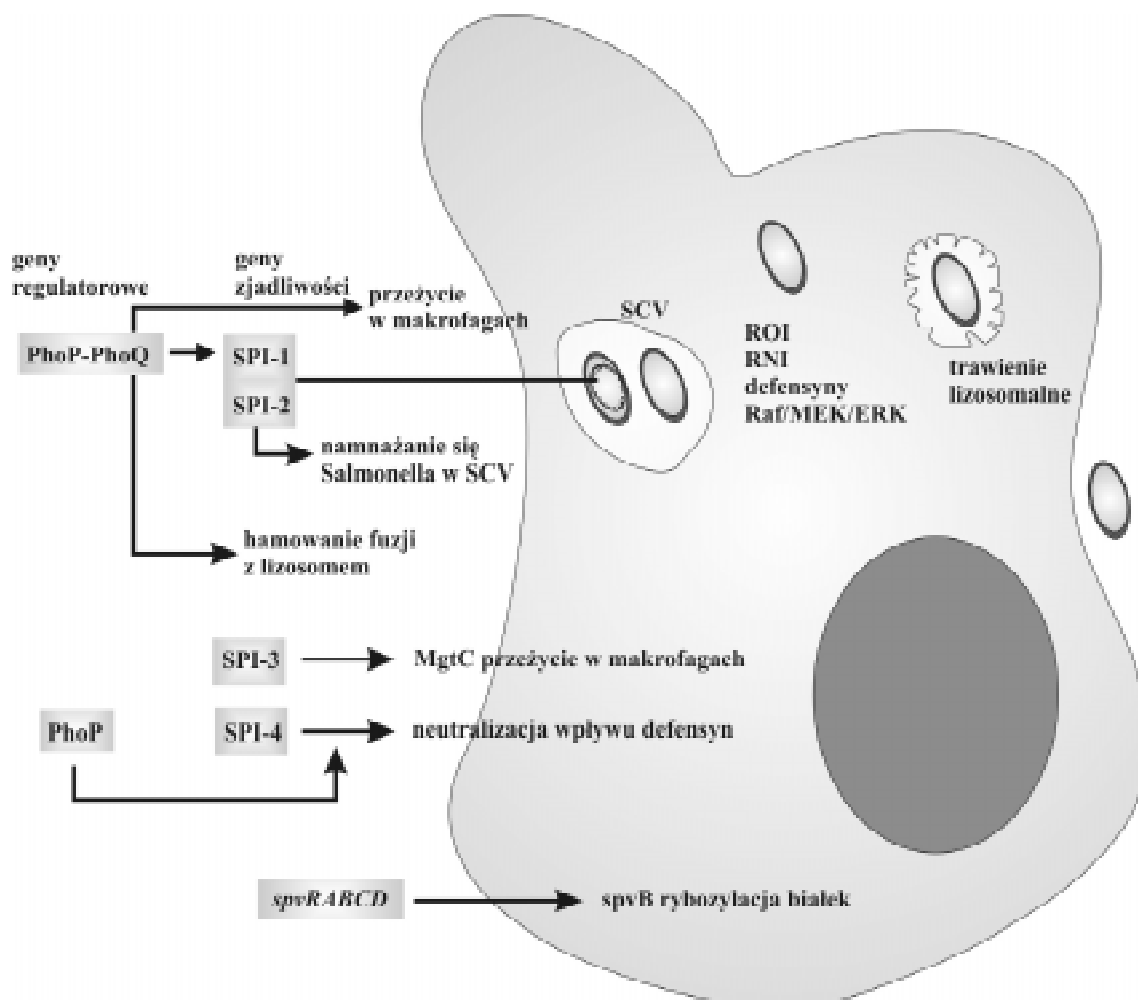
#### 4.1. Namnażanie się i przeżywanie w makrofagach

Wnikanie pałeczek *Salmonella* do makrofagów może odbywać się w podobny sposób, jak do komórek nabłonka jelitowego lub poprzez wchłonięcie przez komórki fagocytykujące (Rys. 3). Niektóre z serowarów tych bakterii do swego łączenia się z makrofagami, wykorzystują fimbrie, jak np. ma to miejsce w przypadku *Salmonella* Enteritidis rozpoznającej makrofagi przy pomocy SEF14. *Salmonella* dostosowują się do niekorzystnego dla nich środowiska, głównie w wyniku syntezy co najmniej 35 nowych białek lub represji innych. Wiele z nich jest podobnych do wytwarzanych w komórkach nabłonka jelitowego podczas inwazji do nich pałeczek *Salmonella* [8, 43, 44].

*Salmonella* przedostają się do komórek fagocytykujących w pęcherzyku fagocytarnym, podobnym do pęcherzyka endocytarnego. Niektóre z nich łączą się z lizosomami co powoduje zabicie i degradację pato-

geny. Natomiast inne namnażają się w zamkniętym w pęcherzyku SCV, utworzonym i utrzymywanym również dzięki przebudowie cytoszkieletu aktynowego. Zamknięcie bakterii w SCV indukuje ekspresję genów zlokalizowanych w obrębie SPI-2. Mają na to wpływ warunki panujące w komórkach gospodarza, jak np. niskie stężenie jonów  $Mg^{2+}$ , niskie pH. Kodowane przez nie białka eksportowane są na zewnątrz przy pomocy TTSS-2 [25, 36]. Pęcherzyk zawierający *Salmonella* pozbawiony jest receptora mannozowego charakterystycznego dla późnego endosomu dzięki czemu nie dochodzi do wiązania się białek uczestniczących w przyłączeniu się lizosomu i tworzenia fagolizosomu. Przyłączanie się lizosomu blokuje również wytwarzane przez *Salmonella* białko SipC kodowane przez geny SPI-2 i wstrzykiwane do komórki gospodarza za pomocą TTSS-2 [25].

Na podstawie wielu doświadczeń przeprowadzonych *in vitro* udowodniono, że pałeczki *Salmonella* po wnikięciu do makrofagów lub komórek nabłonka jelitowego szybko namnażają się w zamkniętych pęcherzykach SCV. Zwykle liczba bakterii w ciągu 24 godz. zwiększa się stukrotnie. Wewnątrzkomórkowy wzrost



Rys. 3. Czynniki wytwarzane przez pałeczki *Salmonella* wpływające na ich przeżywanie i namnażanie się w makrofagach.

bakterii stymulowany jest czynnikami kodowanymi przez geny zgrupowane w SPI-1, SPI-2 oraz PhoP-PhoQ, regulującego ekspresję cech zjadliwości. Nie do końca wiadomo, czy czynniki kodowane przez wspomniane geny działają zależnie, czy też niezależnie od siebie. Wiadomo, że białka kodowane przez SPI-1 odgrywają rolę w namnażaniu się bakterii wewnątrz SCV tworzących się w komórkach nabłonka jelitowego, białka kodowane przez SPI-1 i SPI-2 w komórkach nabłonka jelitowego i makrofagach, natomiast białka kodowane przez PhoP-PhoQ tylko w makrofagach. Regulon PhoP-PhoQ uczestniczy również w hamowaniu fuzji lizosomu z dojrzewającym SCV. Do przeżycia pałeczek *Salmonella* w makrofagach absolutnie niezbędne są zatem czynniki kodowane przez SPI-2 i PhoP-PhoQ [20, 21, 25, 43]. Również pewną rolę odgrywają w tym procesie inne czynniki kodowane przez geny SPI-3 i SPI-4. Zlokalizowany w SPI-3 gen *mgtC* koduje białko niezbędne do przeżycia bakterii wewnątrz makrofagów w środowisku ubogim w  $Mg^{2+}$ , a białka kodowane przez SPI-4 neutralizują wpływ defensyn, kationowych peptydów uwalnianych z ziarnistości fagosomalnych makrofagów i neutrofilów. Oporność na defensyny wynika również z obecności produktu genu *phoP*. Obecność tak wielu białek wytwarzanych przez bakterie może wynikać z niekorzystnego oddziaływania w tych komórkach licznych substancji, jak np. aktywnych form tlenu i azotu (ROI, RNI), przeciwbakteryjnych peptydów i innych, uwalnianych w wyniku aktywacji wielu mechanizmów obronnych, jak np. uruchomienia kaskady Raf/MEK/ERK [6, 12].

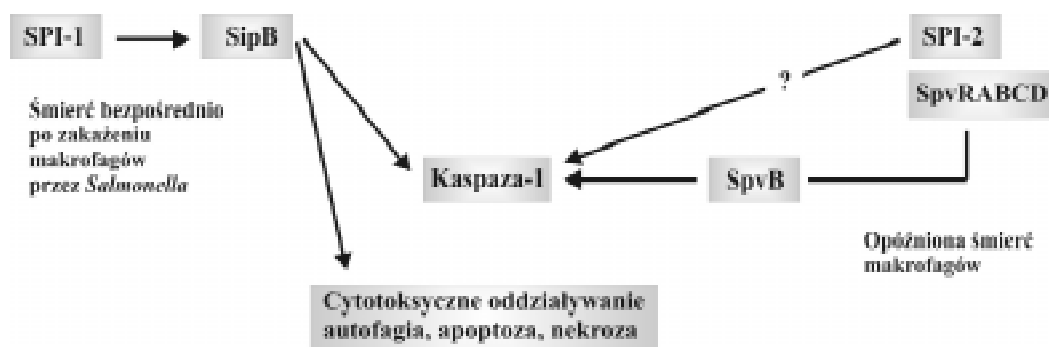
Na namnażanie się pałeczek *Salmonella* i przeżywanie w makrofagach mają również wpływ produkty genów zgrupowania *spv*, które występuje u większości serowarów *Salmonella enterica* subsp. *enterica* w dużym plazmidzie zjadliwości. Gen *spvB* koduje wielodomowe białko. Przy jego C-terminalnym końcu znajduje się domena o aktywności mono-(ADP-rybozyl) transferazy (mADPRTs). Enzym ten oddziałując na komórki gospodarza powoduje ADP rybozylację wielu białek w wyniku czego dochodzi do zmiany ich

funkcji. Rybozylacja białek makrofagów neutralizuje ich właściwości bójcze w stosunku do bakterii, dzięki czemu zarazki mogą się w tych komórkach namnażać [4, 33, 34, 35].

Przebywanie *Salmonella* w pęcherzykach endosomalnych w komórkach nabłonka jelitowego kończy się wraz z wykształceniem wydłużonych struktur określanych jako Sifs. Przypuszcza się że ich powstawanie indukowane jest specyficznymi produktami bakterii będących dużej liczbie w tym czasie w pęcherzyku. Podobne struktury zaobserwowano również w makrofagach chociaż zjawisko to nie dotyczyło wszystkich komórek [19]. W niewielkim odsetku pałeczki *Salmonella* mogą znajdować się bezpośrednio w cytozolu komórek nabłonka jelitowego i makrofagów.

#### 4.2. Śmierć makrofagów

W badaniach nad oddziaływaniem *Salmonella* na makrofagi w hodowlach *in vitro*, bakterie bardzo szybko bo już po 45 minutach powodowały ich śmierć (Rys. 4). Jak zaznaczają autorzy doświadczeń, następuje to w warunkach optymalnych dla ekspresji białek SPI-1 TTSS [28, 45, 48, 51]. W warunkach zakażenia, które ma miejsce w żywym organizmie, kinetyka zachodzących procesów, jak i natężenie pojawiających się zmian może znacznie odbiegać od ustalonych warunkami eksperymentu *in vitro*. Co więcej na wyrażenie się zmian będzie miała również wpływ liczba zarazków, które spowodowały zakażenie. Makrofagi, do których wniknęły pałeczki *Salmonella* nie będą zatem homogenną populacją komórek, ale często będą wykazywały różne cechy morfologiczne i fizjologiczne. W niektórych można będzie obserwować kondensację chromatyny i obecność nukleosomów w cytoplazmie, wskazujące na apoptozę, u innych zaś uszkodzenie błony komórkowej i organelli wewnątrzkomórkowych wskazujące na nekrozę [31, 52]. Wydaje się również, że zmiany te mogą zachodzić na drodze odmiennych mechanizmów. Niezależnie od tego, które z opisanych zmian dominują, to nie dochodzi do ich powstania



Rys. 4. Czynniki wytwarzane przez pałeczki *Salmonella* powodujące wczesną i późną śmierć makrofagów.

w następstwie zakażenia pałeczkami *Salmonella* pozbawionymi SPI-1 TTSS. Szybka śmierć makrofagów po zakażeniu pałeczkami *Salmonella* odbywa się przy udziale kaspazy -1, ponieważ komórki jej nie mające, są bardziej odporne na indukcję zaprogramowanej przez bakterie śmierci [30]. W procesie tym uczestniczy wytwarzane przez *Salmonella* białko SipB dostarczane do komórki gospodarza za pośrednictwem TTSS. Jest ono niezbędne do funkcjonowania wspomnianego systemu ponieważ uczestniczy również w transporcie innych białek efektorowych do komórki gospodarza. Jego kluczową rolę w indukcji śmierci makrofagów zależnej od kaspazy-1, udowodniono doświadczalnie. Po bezpośrednim wstrzyknięciu do makrofagów białka SipB dochodziło do śmierci tych komórek [27].

Okazało się, że *Salmonella* oddziałuje również cytotoksycznie na makrofagi pozbawione kaspazy-1. Zjawisko to obserwuje się po około 3 godzinach od ich zakażenia i do jego wywołania również jest niezbędne białko SipB. Można więc założyć że, białko to uczestniczy również w wywoływaniu śmierci makrofagów na drodze niezależnej od kaspazy -1. Jego nawet przejściowa ekspresja powoduje powstawanie wielobłonowych struktur przypominających autofagosomy zlokalizowane w bliskości mitochondriów. Nie wykluczone również, że obserwowane struktury mogą być zdegradowanymi mitochondriami. Wydaje się, że mitochondria ulegają fuzji z tymi strukturami połączonymi z białkiem SipB. Chociaż nie ma bezpośredniego dowodu na potwierdzenie tej tezy to liczne dowody pośrednie przemawiają na korzyść tej hipotezy (1. Obecne typowe dla mitochondriów markery we wspomnianych wielobłonowych strukturach, 2. Indukowanie przez białko SipB fuzji lipozomów wzmagane przez kardiolopinę mitochondrialną, 3. Lokalizacja białka SipB w mitochondriach w czasie zakażenia *Salmonella* i inne). Wspomniane wielobłonowe struktury udało się także wyznaczyć wskaźnikiem autofagosomów, monodansylkadaweryną. Przytoczone dane mogą więc wskazywać, że białko SipB może również indukować śmierć makrofagów na drodze autofagi [24,26]. Fakt ten potwierdzałoby cytotoksyczne oddziaływanie *Salmonella* na makrofagi pozbawione kaspazy-1 i traktowane inhibitorami innych kaspaz.

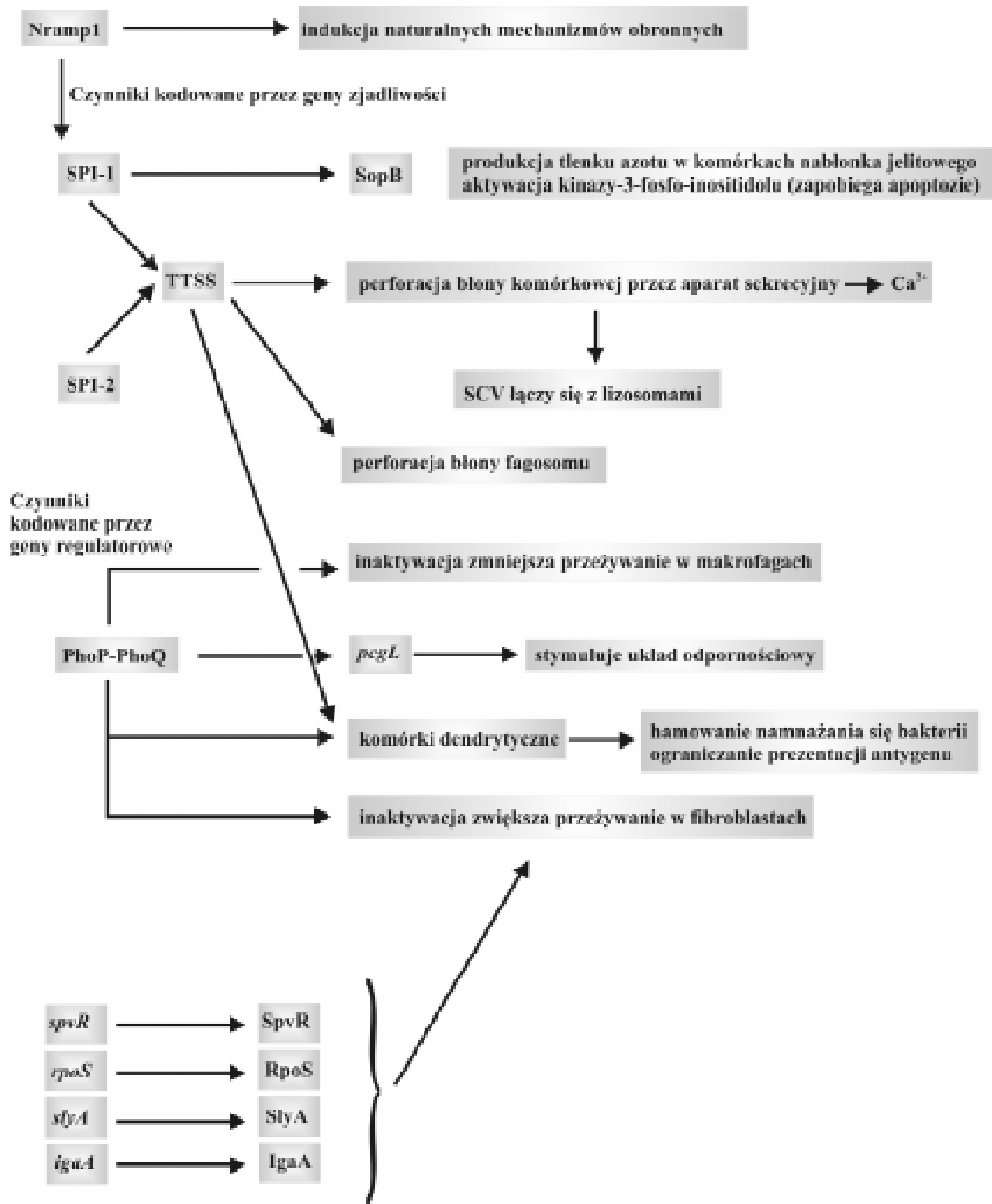
W doświadczeniach, w których badano wpływ mutantów pałeczek *Salmonella* pozbawionych genów zgrupowania SPI-1 na makrofagi hodowane *in vitro*, stwierdzono że powodowały one śmierć tych komórek, ale opóźnioną, ujawniającą się dopiero po 24 godzinach od zakażenia. Przyjęto założenie, że do śmierci makrofagów w tym przypadku dochodzi prawdopodobnie w wyniku uruchomienia przemian zainicjowanych przez produkty genów SPI-2 i białek uwalnianych przy pomocy TTSS-2. Wkrótce okazało się, że pod-

danie mutacji istotnych dla funkcjonowania systemu SPI-2 TTSS-2 genów spowodowało, że takie szczepy nie zabijały makrofagów. Jak to już przedstawiono wcześniej, białka kodowane przez SPI-2 i transportowane przez TTSS-2 są niezbędne do namnażania się pałeczek *Salmonella* w makrofagach i przeżycia w nich. Mutanty szczepów pozbawionych tych właściwości zachowały w dalszym ciągu zdolność zabijania makrofagów, co może wskazywać na to, że niektóre tylko białka efektorowe dostarczane do komórek makrofagów przez TTSS uczestniczą w programowanej ich śmierci. Dotychczas takiego białka, czy białek kodowanych przez SPI-2 nie zidentyfikowano [38]. Co raz więcej danych przemawia za tym, że takim białkiem może być SpvB kodowane przez geny zgrupowania *spv* zlokalizowane w dużym plazmidzie zjadliwości. Prawdopodobnie, wydzielane przez pałeczki *Salmonella* białko dostarczane jest do makrofaga za pośrednictwem TTSS-2. Mutacja spowodowana delecją genu *spvB* powodowała utratę przez *Salmonella* zdolności indukowania śmierci makrofagów [22, 32].

W konkluzji można by więc stwierdzić, że pałeczki *Salmonella* poprzez białka efektorowe SPI-2 TTSS i białko SpvB wywierają proapoptotyczny wpływ na makrofagi. Wydaje się, że ta forma apoptozy wymaga również udziału kaspazy-1, ponieważ pozbawione jej makrofagi nie były zabijane. Co więcej obecność prozapalnej IL-1 $\beta$ , która jest uwalniana w wyniku aktywności kaspazy-1 dodatkowo potwierdzałaby udział tego enzymu w programowanej śmierci makrofagów. Mechanizm aktywacji kaspazy-1 nie jest jasny. Wiele dowodów wskazuje na to, że może to być konsekwencją aktywacji nieswoistych mechanizmów immunologicznych.

## 5. Przetrvanie w komórkach gospodarza

Wiele bakteryjnych patogenów w celu przeżycia wykształciło mechanizmy ograniczające ich nadmierne namnażanie się, tak aby nie dopuścić do śmierci gospodarza, u którego pasożytują (Rys. 5). Podobną strategię realizują pałeczki *Salmonella* poprzez ukierunkowaną ekspresję genów zjadliwości, a także poprzez poddawanie się wpływowi mechanizmów obronnych gospodarza. Tylko u niewielkiego odsetka zakażonych tymi bakteriami ludzi i zwierząt obserwuje się ostry czy śmiertelny przebieg choroby. Z reguły natomiast ustala się bezobjawowe nosicielstwo trwające miesiącami, a nawet latami. Zarazek umiejętnie uruchamia i wykorzystuje, mechanizmy samoograniczające namnażanie się, dzięki czemu może przetrwać przez możliwie, jak najdłuższy okres czasu w komórkach gospodarza [10, 12, 13, 23, 40, 49]. We wczesnym etapie zakażenia, hamowanie wzrostu pałeczek *Salmonella* następuje w następstwie uruchomienia przez gospodarza



Rys. 5. Mechanizmy regulujące namnażanie się pałeczek *Salmonella* w komórkach gospodarza, doprowadzające do powstania zakażenia przetrwałego.

naturalnych mechanizmów obronnych indukowanych przez czynnik Nrpml, uczestniczący w transporcie dwuwartościowych kationów w jego komórkach. Okazuje się również, że czynnik Nrpml wpływa regulującą na ekspresję genów zjadliwości bakterii, zlokalizowanych w SPI-1 i SPI-2, w tym genów kodujących TTSS. [37, 40]. W komórkach zarazka ekspresję genów SPI-1 i SPI-2 reguluje fosforylaza polinukleotydowa (PNP) odpowiedzialna za dojrzewanie i degradację RNA. Dodatkowo w procesie tym uczestniczy

nowo odkryte u *Salmonella* Typhimurium białko błony zewnętrznej Mig-14, powodujące odporność bakterii na peptydy katelinowe wytwarzane przez aktywowane makrofagi [12]. Białko efektorowe SopB kodowane przez geny SPI-1, stymuluje produkcję tlenu azotu w komórkach nabłonka jelitowego. To samo białko aktywuje kinazę-3-fosfo-inositidolu, która zapobiega apoptozie. Perforacja błony komórki gospodarza przez aparat sekrecyjny SPI-1 TTSS skutkuje zmianą poziomu wewnątrzkomórkowego Ca<sup>2+</sup> co doprowadza do

zwiększonego łączenia się SCV z lizosomami [42]. Nie wyklucza się, że również białka SPI-2 TTSS-2 mogą perforować błonę fagosomu oraz aktywować mechanizmy ograniczające namnażanie się bakterii w komórkach gospodarza. Dodatkowo, układ PhoP-PhoQ regulujący ekspresję genów zjadliwości pałeczek *Salmonella* ulegając indukcji pozytywnie oddziałuje na gen *pcgL*, którego produkty stymulują układ odpornościowy gospodarza, a to powoduje, że w trakcie zakażenia nie dochodzi do masowej inwazji bakterii do narządów wewnętrznych [20, 40].

Tak więc można by założyć, że pałeczki *Salmonella* poprzez programowe ograniczenie swojego namnażania się, jak i stymulację mechanizmów odpornościowych gospodarza, mogą przetrwać w jego komórkach.

W utrzymaniu się zakażenia przetrwałego uczestniczą prawdopodobnie również komórki dendrytyczne i fibroblasty licznie występujące w błonie podstawnej jelita. Komórki dendrytyczne uczestniczą w prezentacji antygeny i w odróżnieniu od makrofagów są zdolne do aktywacji dziewiczych limfocytów T. Zaskakująco, na podstawie doświadczeń przeprowadzonych *in vitro* okazało się, że również w tych komórkach, u pałeczek *Salmonella*, które do nich wniknęły może dochodzić do ekspresji genów SPI-2. Sugeruje to, że możliwe jest aktywowanie mechanizmów podobnych do zachodzących w makrofagach. Wiadomo również, że produkty genów PhoP-PhoQ wpływają ograniczająco na prezentowanie przez komórki dendrytyczne antygeny co niewątpliwie służy ochronie nielicznie występujących w nich bakterii [29].

W badaniach nad wpływem pałeczek *Salmonella* na komórki gospodarza nie brano pod uwagę fibroblastów, ponieważ wydawało się, że nie są one celem inwazji tych bakterii. W badaniach *in vitro* po zakażeniu tych komórek zjadliwym szczepem pałeczek *Salmonella*, podobnie, jak to ma miejsce w komórkach dendrytycznych, obserwuje się w ich cytozolu od 2 do 3 komórek baterijnych [8, 49]. Fibroblasty nie wykazują zmian i zachowują żywotność powyżej 3 tygodni od momentu zakażenia. Większość wyizolowanych w tym czasie *Salmonella* z tych komórek tworzy tzw. mały typ kolonii na podłożach bakteriologicznych, charakteryzuje się defektami oddechowymi, zwiększoną zdolnością do wewnątrzkomórkowego przeżywania oraz wysoce obniżoną zjadliwością [14]. Powyższy przykład pokazuje, jak może zmieniać się drobnoustrój aby zrealizować cel przetrwania. Wydaje się, że pewne mechanizmy regulujące wewnątrzkomórkowy wzrost bakterii przebiegają inaczej w fibroblastach niż w komórkach nabłonka jelitowego i makrofagach. Dla przykładu, inaktywacja systemu PhoP-PhoQ zmniejsza przeżywanie *Salmonella* w makrofagach, natomiast zwiększa w fibroblastach. Aktywacja tego systemu będzie więc działała odwrotnie w fibroblastach. Podobną rolę przy-

pisuje się innym czynnikiem, jak np. białku SpvR spełniającemu regulacyjną funkcję dla operonu *spv*, białku SlyA, czynnikiem sigma RpoS i nowo odkrytemu białku IgaA (ang. intracellular-growth attenuator-A) [41]. Okazało się również, że białka kodowane przez geny SPI-2 wydzielane przez pałeczki *Salmonella* na drodze TTSS-2, w dłuższej perspektywie uczestniczą również w ochronie przed zabijaniem *Salmonella* w tych komórkach.

Przytoczone powyżej przykłady, w większości z badań przeprowadzonych *in vitro* świadczą o wykształceniu przez pałeczki *Salmonella* mechanizmów, które kontrolują ich namnażanie się w różnych komórkach gospodarza. Pytanie, czy podobne zjawiska mają miejsce w tkankach organizmu żywego pozostaje ciągle w sferze przypuszczeń i spekulacji. Na podstawie badań, w których oceniano występowanie pałeczek *Salmonella* w makrofagach wątroby i śledziony oraz makrofagach i komórkach dendrytycznych obecnych we krwi, w 25% przypadków wykrywano tylko jedną bakterię. W podobnym odsetku stwierdzano makrofagi zawierające od 1 do 5, od 5 do –10 i powyżej 10 komórek *Salmonella*. Po 4 dniach od zakażenia w ponad 90% zakażonych komórek fagocytykujących wątroby o fenotypie CD18<sup>+</sup> (makrofagi, komórki dendrytyczne) stwierdzano pałeczki *Salmonella* w liczbie  $\leq 3$ . Ogólna liczba bakterii zwiększyła się w tym czasie tysiąckrotnie. Zjawisko to można wyjaśnić tym, że dochodziło do zwiększenia się liczby ognisk zakażenia w wątrobie, nie dochodziło natomiast do masowego namnażania się pałeczek *Salmonella* w komórkach gospodarza [28, 44]. Rozprzestrzenianie się zakażenia na kolejne komórki fagocytykujące możliwe jest dzięki apoptozie tych pierwszych. Nie potwierdzono aktywnego wzrostu tych bakterii w komórkach dendrytycznych. Wynika więc z tego, że w trakcie zakażenia, w komórkach fagocytykujących wątroby i śledziony znajduje się niewiele bakterii. W doświadczeniu na myszach *Nramp1<sup>+/+</sup>*, którym podawano niskie dawki *Salmonella* w celu wywołania zakażenia przetrwałego, po roku od zakażenia większość zarazków wykrywano w makrofagach węzłów chłonnych krezkowych w liczbie od 3 do 4 komórek [40].

## 6. Podsumowanie

W podsumowaniu przedstawionych danych, można stwierdzić, że chorobotwórczość pałeczek *Salmonella* nie przejawia się w masowym wzroście tego zarazka w komórkach gospodarza. Dotyczy to zarówno okresu zakażenia systemowego, jak i zakażenia przetrwałego. Czynniki *Nramp1* w wyniku aktywacji naturalnych mechanizmów obronnych gospodarza, a także regulacji ekspresji genów zjadliwości pałeczek *Salmonella* przy-

czynia się do ograniczenia namnażania się bakterii i ustabilizowania długotrwałego nosicielstwa. Do przetrwania *Salmonella* w komórkach gospodarza przyczyniają się również komórki dendrytyczne i fibroblasty, do których patogen trafia krótko po pokonaniu bariery jelitowej. Bakterie wykształciły mechanizmy, dzięki którym dochodzi do ograniczenia ich funkcji życiowych, w tym również ekspresji czynników zjadliwości. Wiele z nich współdziała z mechanizmami obronnymi gospodarza dzięki czemu dochodzi do ich pobudzenia. Zapobiega to masowemu namnażaniu się bakterii i stwarza warunki nielicznym z nich do przetrwania [40, 49]. W początkach zakażenia, które ma miejsce w jelitach, niedojrzałe komórki dendrytyczne zlokalizowane w bliskości nabłonka jelitowego obdarzone dużymi zdolnościami fagocytującymi są pierwszymi, które pochłaniają bakterie po ich uwolnieniu z komórek M. Komórki dendrytyczne dojrzewają w wyniku stymulacji przez patogen i migrują do rejonów bogatych w komórki T, jakim są narządy limfatyczne. Komórki dendrytyczne obecne w błonie podstawnej jelita również w sposób bezpośredni przez wypustki wciskające się między komórkami nabłonka jelitowego pochłaniają pałeczki *Salmonella* ze światła jelita, niezależnie od mechanizmów kodowanych przez geny SPI-1 drobnoustroju. Nie wyklucza się również, że *Salmonella* mogą wnikać do fibroblastów obecnych w błonie podstawnej jelita, chociaż, jak dotychczas brak jest jednoznacznych dowodów potwierdzających tę tezę [13].

## Piśmiennictwo

- Binek M.: Salmonellozy zwierząt – penetracja do komórek i nosicielstwo zarazków. Zakażenia wspólne dla ludzi i zwierząt. Wyd. SGGW, 1997, s. 61–73
- Binek M.: *Salmonella enterica*, bakteria, która wybrała komórkę. *Polskie Drobniarstwo*, Suppl. Zdrowie dla lekarzy weterynarii, 52–56 (2005)
- Binek M., Błaszczak B.: Zakażenia kurcząt *Salmonella* Enteritidis – Znaczenie odporności komórkowej. *Post. Mikrobiol.* **37**, 403–415 (1995)
- Binek M., Madajczak G.: Znaczenie plazmidowego zgrupowania genów *spv* u *Salmonella enterica* subsp. *Enterica*. *Medycyna Wet.* **60**, 911–914 (2004)
- Birmingham C.L., Jiang X., Ohlson M.B., Miller S.I., Brummell J.H.: *Salmonella*-induced filament formation is a dynamic phenotype induced by rapid replicating *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in epithelial cells. *Infect. Immun.* **73**, 1204–1208 (2005)
- Blanc-Potard A.B., Solomon F., Kayser J., Groisman E.A.: The SPI-3 Pathogenicity Island of *Salmonella enterica*. *J. Bacteriol.* **181**, 998–1004 (1999)
- Bläumler A.J.: The record of horizontal gene transfer in *Salmonella*. *Trends Microbiol.* **5**, 318–322 (1997)
- Bläumler A.J., Tsolis R. M., Ficht T. A., Adams L. G.: Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. *Infect. Immun.* **66**, 4579–4587 (1998)
- Bläumler A.J., Tsolis R.M., Heffron F.: Virulence mechanisms of *Salmonella* and their genetic basis. W *Salmonella* in domestic animals, ed. C. Wray and A. Wray, CABI publishing, 2000, s. 57–72
- Błaszczak B., Binek M.: Nosicielstwo w stadzie oraz obecność *Salmonella* Enteritidis w jajach i zarodkach kurzych. *Medycyna Wet.* **55**, 39–41 (1999)
- Boise L., Collins C.: *Salmonella*-induced cell death: apoptosis, necrosis or programmed cell death? *Trends Microbiol.* **9**, 64–67 (2001)
- Brodsky I.E., Ghori N., Falkow S., Monack D.: Mig-14 is an inner membrane-associated protein that promotes *Salmonella typhimurium* resistance to CRAMP, survival within activated macrophages and persistent infection. *Mol. Microbiol.* **55**, 954–972 (2005)
- Cano D.A., Martinez-Moya M., Pucciarelli M.G., Groisman E.A., Casadeus J., Garcia-Del Portillo F.: *Salmonella enterica* serovar Typhimurium response involved in attenuation of pathogen intracellular proliferation. *Infect. Immun.* **69**, 6463–6474 (2001)
- Cano D.A., Pucciarelli M.G., Martinez-Moya M., Casadeus J., Garcia-del Portillo F.: Selection of small-colony variants of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in nonphagocytic cells. *Infect. Immun.* **71**, 3690–3698 (2003)
- Daniels J.J.D., Autenrieth I.B., Ludwig A., Goebel W.: The gene *slyA* of *Salmonella typhimurium* is required for destruction of M cells and intracellular survival but not for invasion or colonization of the murine small intestine. *Infect. Immun.* **64**, 5075–5084 (1996)
- Fu Y., Galán J.E.: A *Salmonella* protein antagonizes Rac-1 and Cdc42 to mediate host-cell recovery after bacterial invasion. *Nature*, **401**, 293–297 (1999)
- Galan J.E., Zhou D.: Striking a balance: Modulation of the actin cytoskeleton by *Salmonella*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 8754–8761 (2000)
- Garcia-Del Portillo F.: *Salmonella* intracellular proliferation: where, when and how? *Microb. Infect.* **3**, 1305–1311 (2001)
- Gorvel J. P., Méresse S.: Maturation steps of the *Salmonella*-containing vacuole. *Microb. Infect.* **3**, 1299–1303 (2001)
- Gravis S.G., Beuzón C.R., Holdel D.W.: A role for the PhoP/Q regulon in inhibition of fusion between lysosomes and *Salmonella*-containing vacuoles in macrophages. *Cell. Microbiol.* **3**, 731–744 (2001)
- Groisman E.A.: The pleiotropic two-component regulatory system PhoP-PhoQ. *J. Bacteriol.* **183**, 1835–1842 (2001)
- Guilleteau L.A., Wallis T.S., Gautier A.V., MacIntyre S., Platt D.J., Lax A.J.: The *Salmonella* virulence plasmid enhances *Salmonella*-induced lysis of macrophages and influences the inflammatory responses. *Infect. Immun.* **64**, 3385–3393 (1996)
- Guiney D.G.: The role of host cell death in *Salmonella* infections. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **289**, 131–150 (2005)
- Hales K., Fuller M.: Developmentally regulated mitochondrial fusion mediated by a conserved, novel, predicted GTPase. *Cell. Microbiol.* **90**, 121–129 (1997)
- Hensel M.: *Salmonella* Pathogenicity Island 2. *Mol. Microbiol.* **36**, 1015–1023 (2000)
- Hernandez L.D., Pypaert M., Flavell R.A., Galan J.E.: A *Salmonella* protein causes macrophage cell death by inducing autophagy. *J. Cell. Biol.* **163**, 1123–1131 (2003)
- Hersh D., Monack D.M., Smith M.R., Ghori N., Falkow S., Zychlinski A.: The *Salmonella* invasin SipB induces macrophage apoptosis by binding to caspase-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 2396–2401 (1999)
- Hueffer K., Galan J.E.: *Salmonella*-induced macrophage death: multiple mechanisms, different outcomes. *Cell. Microbiol.* **6**, 1019–1025 (2004)
- Jantsch J., Cheminay C., Chakravorty D., Lindig T, Hein J., Hensel M.: Intracellular activities of *Salmonella enterica* in murine dendritic cells. *Cell. Microbiol.* **5**, 933–945 (2003)

30. Jarvelainen H.A., Galmiche A., Zyclinsky A.: Caspase-1 activation by *Salmonella*. *Trends. Cell. Biol.* **13**, 204–209 (2003)
31. Jesenberger V., Procyk K.J., Yuan J., Reipert S., Baccarini, M.: *Salmonella*-induced caspase-2 activation in macrophages: a novel mechanism in pathogen mediated apoptosis. *J. Exp. Med.* **192**, 1035–1046 (2000)
32. Kurita A., Gotoh H., Eguchia M., Okadab N., Matsuura S., Matsui H., Danbarab H., Kikuchia Y.: Intracellular expression of the *Salmonella* plasmid virulence protein, SpvB, causes apoptotic cell death in eukaryotic cells. *Microb. Pathogen.* **35**, 43–48 (2003)
33. Lesnick M.L., Reiner N.E., Fierer J., Guiney D.G.: The *salmonella* spvB virulence genes encodes an enzyme that ADP-ribosylates actin and destabilizes the cytoskeleton of eukaryotic cells. *Mol. Microbiol.* **39**, 1464–1470 (2001)
34. Madajczak G., Binek M.: Znaczenie plazmidowego zgrupowania genów spv w chorobotwórczości *Salmonella* Enteritidis dla kur. *Med. Dośw. Mikrobiol.* **57**, 163–174 (2005)
35. Madajczak G., Klimuszko D., Rzewuska M., Błaszczak B., Fafiński Z., Binek M.: Występowanie zgrupowania spv na dużym plazmidzie zjadliwości u *Salmonella* Enteritidis izolowanych od drobiu. *Medycyna Wet.* **59**, 44–46 (2003)
36. Marcus S.L., Brumell H., Pfeifer C.G., Finlay B.B.: *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. *Microb. Infect.* **2**, 145–156 (2000)
37. Mastroeni P., Sheppard M.: *Salmonella* infection in the mouse model: host resistance factors and in vivo dynamics of bacterial spread and distribution in the tissues. *Microbes. Infect.* **6**, 398–405 (2004)
38. Monack D.M., Detweiler C.S. and Falkow S.: *Salmonella* pathogenicity island 2-dependent macrophage death is mediated in part by the host cysteine protease caspase-1. *Cell. Microbiol.* **3**, 825–837 (2001)
39. Monack D.M., Hersh D., Ghori N., Bouley D., Zychlinsky A., Falkow S., *Salmonella* exploits caspase-1 to colonize Peyer's patches in a murine typhoid model, *J. Exp. Med.* **192**, 249–258 (2000)
40. Monack D.M., Mueller A., Falkow S.: Persistent bacterial infection: the interface of the pathogen and the host immune system. *Nact Rev. Microbiol.* **2**, 747–765, 2004.
41. Nickerson C., Curtis III R.: Role of Sigma factor RpoS in initial stages of *Salmonella* typhimurium infection. *Infect. Immun.* **65**, 1814–1823 (1997)
42. Norris F.A., Wilson M.P., Wallis T.S., Galyov E.E., Majerus P.W.: SopB, a protein required for virulence of *Salmonella* dublin, is an inositol phosphate phosphatase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 14057–14059 (1998)
43. Rosenberger C.M., Gallo R.L., Finley B.B.: Interplay between antibacterial effectors: a macrophage antimicrobial peptides impairs intracellular *Salmonella* replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 2422–2427 (2004)
44. Salcedo S.P., Noursadeghi M., Cohen J., Holden D.W.: Intracellular replication of *Salmonella* Typhimurium strains in specific subsets of splenic macrophages in vivo. *Cell. Microbiol.* **3**, 587–597 (2001)
45. Schwan W.R., Huang X., Hu L., Kopecko D.J.: Differential Bacterial Survival, Replication, and Apoptosis-Inducing Ability of *Salmonella* Serovars within Human and Murine Macrophages. *Infect. Immun.* **68**, 1005–1013 (2001)
46. Steele-Mortimer O., Brumell J.H., Knodler L.A., Méresse S., Lopez A., Finley B.B.: The invasion-associated type III secretion system of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is necessary for intracellular proliferation and vacuole biogenesis in epithelial cells. *Cell. Microbiol.* **4**, 43–54 (2002)
47. Suárez M., Rüssmann.: Molecular mechanisms of *Salmonella* invasion: the type III secretion system of the pathogenicity island 1. *Internatl. Microbiol.* **1**, 197–204 (1998)
48. Takaya A., Suzuki A., Kikuchi Y., Eguchi M., Isogai E., Tomoyasu T., Yamamoto T.: Depression of *Salmonella* pathogenicity island 1 genes within macrophages leads to rapid apoptosis via caspase-1- and caspase-3-dependent pathways. *Cell. Microbiol.* **7**, 79–90 (2005)
49. Tierrez A., Garcia-del Portillo F.: New concept in *Salmonella* virulence: the importance of reducing the intracellular growth rate in the host. *Cell. Microbiol.* **7**, 901–909 (2005)
50. Unswort K., Way M., McNiven M., Machesky L., Holden D.: Analysis of the mechanisms of *Salmonella*-induced actin assembly during invasion of host cells and intracellular replication. *Cell. Microbiol.* **6**, 1041–1055 (2004)
51. Van der Velden A. W., Lindgren S. W., Worley M. J., Heffron F.: *Salmonella* pathogenicity island 1-independent induction of apoptosis in infected macrophages by *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Infect. Immun.* **68**, 5702–5709 (2000)
52. Watson P., Gautier A., Paulin S., Bland A., Jones P., Wallis T.: *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Dublin can lyse macrophages by a mechanism distinct from apoptosis. *Infect. Immun.* **68**, 3744–3747 (2000)
53. Wood M.W., Jones M.A., Watson P.R., Hedges S., Wallis T.S., Galyov E. E.: Identification of pathogenicity island required for *Salmonella* enteropathogenicity. *Molec. Microbiol.* **29**, 883–891 (1998)
54. Zhoua D., Galán J.: *Salmonella* entry into host cells: the work in concert of type III secreted effector proteins. *Microb. Infect.* **3**, 1293–1298 (2001)

Elżbieta Samorek-Salamonowicz, Tadeusz Wijaszka, Wojciech Kozdruń

Pracownia Diagnostyki chorób Wirusowych Drobiu, Państwowy Instytut Weterynaryjny  
– Państwowy Instytut Badawczy, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: elsam@piwet.pulawy.pl

1. Wprowadzenie. 2. Budowa wirusa grypy. 3. Struktura wirionu grypy. 4. Rodzaje zmienności. 5. Grypa u różnych gatunków ptaków. 6. Historia zakażeń ludzi wirusami grypy ptasiej. 7. Grypa H5N1 u ptaków – sytuacja na świecie 2003–2006. 8. Zakażenie wirusem H5N1 ludzi w okresie 2003–2006. 9. Zakażenia ssaków wirusem H5N1. 10. Globalne przygotowania zabezpieczające przed pandemią. 11. Sytuacja w Polsce

#### Zoonotic aspects of Avian Influenza

**Abstract:** Avian influenza is a contagious disease of animals caused by viruses, members of the family *Orthomyxoviridae*, genus *influenzavirus A*. Influenza A viruses have 16 H subtypes and 9 N subtypes. Only viruses of the H5 and H7 subtypes are known to cause the highly pathogenic form of the disease. Wild waterfowl are considered the natural reservoir of all influenza A viruses. The role of migratory birds in the spread of highly pathogenic avian influenza is not fully understood. They have probably carried influenza viruses and they can introduce H5 and H7 viruses to poultry flock, which then mutate to the highly pathogenic form. The some migratory birds are now directly spreading the H5N1 virus in its highly pathogenic form. The widespread persistence of H5N1 in poultry population is dangerous for human health. In Hong Kong, H5N1 virus infected 18 people and killed 6 of them in 1997 and second time in early 2003 the virus caused two infections, with one death. The virus has appeared in Asia and from mid-December 2003 through 2004 outbreaks in poultry caused by the H5N1 virus were reported in nine Asian nations. In 2005 AI virus has been expanded in Africa and Europe. At present AI virus has been detected in 50 countries of 3 continents. The H5N1 virus was the cause of the death or destruction of about hundreds of millions birds. In the current outbreak, laboratory-confirmed human cases were reported in ten countries: Azerbaijan, Cambodia, China, Djibouti, Egypt, Indonesia, Iraq, Thailand, Turkey and Vietnam. The virus infected 230 people and killed 132 of them. (14 July 2006). According to WHO, FAO and OIE virus H5N1 appearing in many countries and expanding to the West, is a serious threat for human health. Permanent mutations, particularly in PB2 and changes of aminoacids in HA associated with human adaptation of avian viruses are worrisome.

1. Introduction. 2. Structure of the particle of AI virus. 3. Structure of the virion. 4. Types of changes. 5. Influenza in different species. 6. Historic data of the influenza infection in human. 7. Epidemiological situation of AI on the Globe for 2003–2006. 8. Infection of the human of the H5N1 virus for 2003–2006. 9. Mammalian infection of H5N1 virus. 10. Global preparedness against Influenza. 11. Situation in Poland

**Słowa kluczowe:** wirus grypy, grypa H5N1, ptaki dzikie, drób, ludzie, koty

**Key words:** influenza virus, Avian influenza H5N1, wilde birds, poultry, humans, cats

## 1. Wprowadzenie

Wielkie epidemie od wieków towarzyszyły ludzkości siejąc ogromne spustoszenia, dziesiątkując całe populacje oraz wpływając na losy świata. Wirus ospy przyczynił się do upadku imperium rzymskiego, ułatwił kolonizację Brazylii, konkwistę Meksyku, osadnictwo Francuzów i Anglików w Ameryce Północnej i walkę z Indianami. Średniowieczne kontakty z Chinami zaowocowały wielką pandemią grypy. Obecnie pojawiły się nowe wirusy stanowiące zagrożenie dla zdrowia publicznego. Liczne z nich są to infekcje przeniesione bezpośrednio od zwierząt. Ocenia się, że ok. 60% ludzkich patogenów pochodzi od zwierząt, a 75% nowych chorób to zoonozy. Przykładem zoonozy jest grypa, nazywana „zakaźnym wyzwaniem” trzeciego tysiąclecia. Pierwszą wzmiankę o epidemii grypy,

która wydarzyła się w 412 roku p.n.e zawdzięczamy Hipokratemu, natomiast pierwszy szczegółowy opis pandemii grypy pochodzi z 1580 r. Od tego czasu na świecie zanotowano ponad trzydzieści pandemii, trzy pandemie miały miejsce w XX wieku.

W latach 1918/19 pojawił się nowy szczep wirusa grypy H1N1. Został on w stanie niezmiennym przeniesiony na człowieka od zakażonych ptaków [34, 36]. Wywołał pandemię tzw. „hiszpankę”, w wyniku której zmarło 30–40 milionów osób. Kolejne pandemie wydarzyły się w 1957 i 1968 r. Stwierdzono, że odpowiedzialne za nie szczepy Asian/57 i Hong Kong/68 powstały w wyniku reasortacji antygenowej pomiędzy ludzkimi i ptasimi szczepami [11]. Wirus Asian/57 spowodował zgon około 1 mln osób, natomiast wirus Hong Kong/68 podtyp H3N2 był przyczyną zejść śmiertelnych około 700 000 osób. Pandemie te, podobnie jak i większe epidemie wzięły swój początek z Azji południowo-wschodniej, uznawanej za światowe epicentrum grypy [26, 27], a ich źródłem były dzikie lub

domowe ptaki. Każde pojawienie się nowego typu wirusa u ptaków stanowi potencjalne niebezpieczeństwo wystąpienia nowej pandemii grypy. Nic więc dziwnego, że pojawienie się wirusa H5N1 u ptaków i śmiertelne zachorowania u ludzi po zakażeniu tym wirusem uzmysłowiły zagrożenie nową pandemią. Dlatego też tak wiele uwagi poświęca się opracowaniu strategii pozwalającej na ograniczenie i likwidację wirusa u zwierząt i niedopuszczeniu do nowej pandemii. „Wirus jest bardzo niebezpieczny. Nie możemy określić kiedy lub czy wirus H5N1 wywoła pandemię, lecz nie możemy ignorować sygnałów ostrzegawczych. Po raz pierwszy w historii ludzkości mamy szansę do przygotowania się do pandemii grypy przed jej przybyciem” powiedziała dr Margaret Chan – Dyrektor Generalny WHO ds. Pandemii Grypy [19].

## 2. Budowa wirusa grypy

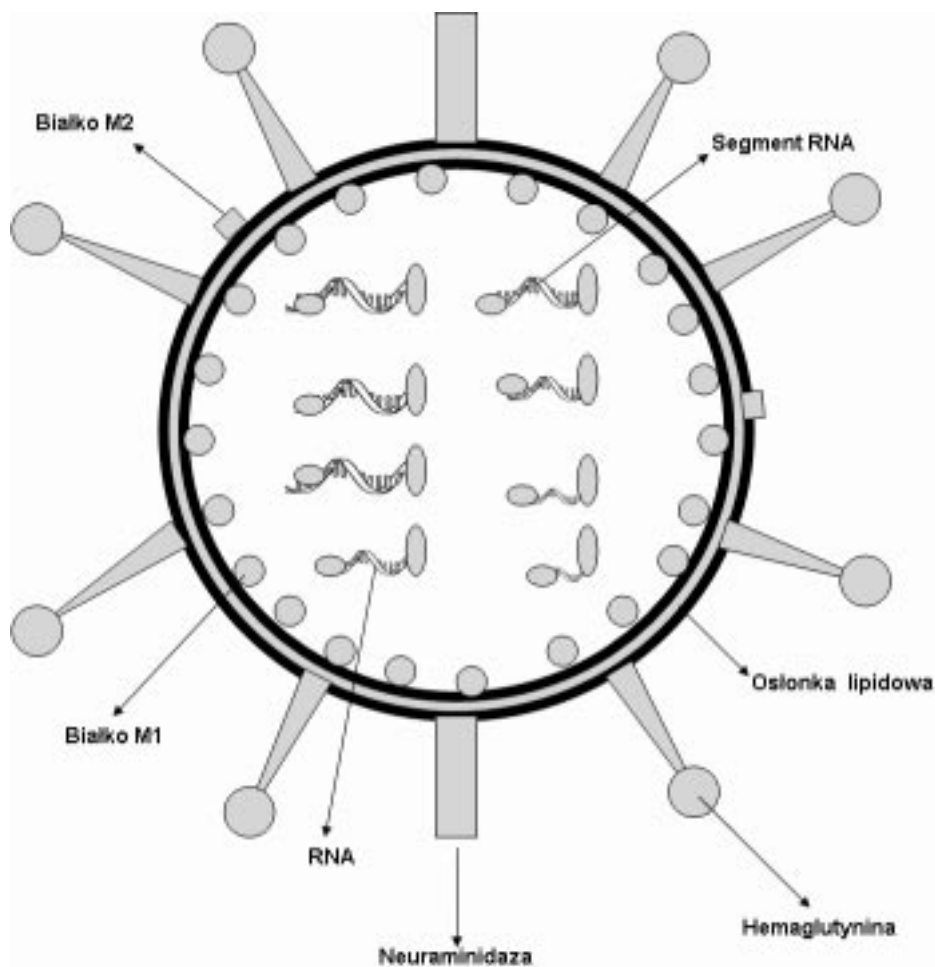
Wirusy grypy, występujące zarówno u ludzi jak i u zwierząt, należą do rodziny *Orthomyxoviridae*. Wyróżnia się trzy typy antygenowe wirusów grypy: A, B i C. Z punktu widzenia historycznego i epidemiologicznego najważniejsze są wirusy grypy należące do typu A, które zakażają ludzi i wiele gatunków zwierząt. Mają symetrię helikalną, oprócz cząstek sferycznych o średnicy 80–120 nm, spotykane są formy nitkowate o długości nawet 1000 nm. Genom wirusa grypy A, ma formę jednoniciowego RNA o ujemnej polarności (ssRNA<sup>(-)</sup>), składa się z ośmiu segmentów pojedynczej nici kwasu RNA o różnej długości. Segmenty te oznaczono kolejnymi cyframi od 1 do 8. RNA wchodzący w skład wirionu (vRNA) ma konserwatywne, niekodujące sekwencje 12 i 13 nukleotydów odpowiednio na końcach 3' i 5'. W procesie biosyntezy białek wirusowych ulega transkrypcji do mRNA. W procesie tym bierze udział wirusowa polimeraza RNA zależna od RNA. W wirusowym mRNA znajdują się fragmenty mRNA komórek gospodarza. Startery do syntezy wirusowych mRNA na matrycach wszystkich ośmiu segmentów genomu stanowią nukleotydy odcięte przez polimerazę wirusową od końców 5' mRNA komórkowego. Powstające mRNA wirusowe zawiera fragment mRNA gospodarza ze strukturą kap oraz fragment kodujący białko wirusowe. W procesie replikacji powstaje także trzeci typ RNA tzw. komplementarny RNA (cRNA), służący jako matryca do syntezy wirusowego RNA, wchodzącego w skład potomnych wirionów [39].

Osiem segmentów RNA koduje dziesięć białek. Pierwsze trzy najdłuższe segmenty RNA kodują białka kompleksu polimerazy: PB1, PB2 i PA, odpowiadające za procesy replikacji/transkrypcji. Białko PB2 ma aktywność endonukleazy, rozpoznaje i łączy komórkowe mRNA, odcinając końcowe sekwencje struktury

kap. Białko PB1 jest to transkryptaza elongacyjna inicjująca syntezę RNA, a PA jest transkryptazą o aktywności proteazy [39]. Segment 4 koduje hemaglutyninę będącą główną glikoproteiną powierzchniową. Jest ona syntetyzowana w postaci nieaktywnego polipeptydu HAO, który podczas i po translacji ulega znacznym modyfikacjom obejmującym cięcie proteolityczne, glikolizację i dołączenie grup palmitylowych. Po cięciu proteolitycznym w endosomach powstają dwa polipeptydy HA1 i HA2 połączone mostkiem dwusiarczkowym. Hemaglutynina odpowiedzialna jest za związanie wirusa ze specyficznymi receptorami komórkowymi, uczestnicząc w fuzji błony komórkowej z otoczką lipidową wirusa, odgrywa więc kluczową rolę w procesie przyłączania i wnikania wirusa do komórki gospodarza. Posiada miejsca hiper-zmienne, w których często występują mutacje punktowe. Stwierdzono występowanie 16 rodzajów HA oznaczanych cyframi arabskimi od 1 do 16 [33, 39]. Segment 5 koduje białko NP, czyli główne białko strukturalne kompleksu rybonukleoproteinowego, tworzące trwałe kompleksy z RNA każdego segmentu. Odgrywa ważną rolę podczas syntezy wirusowego RNA. Zawiera domenę jądrową umożliwiającą transport z i do jądra. Segment 6 koduje drugą glikoproteinę wirusa, a mianowicie neuraminidazę. Rozkłada ona i usuwa reszty kwasu sialowego znajdujące się w receptorach komórkowych swoistych dla wirusa grypy, bierze udział w pierwszej fazie zakażenia, ułatwiając przyłączanie cząstek wirusa. Główną rolę spełnia przy uwalnianiu wirusów potomnych z zakażonych komórek ułatwiając im odczepianie od błon komórkowych. Podobnie jak HA jest bardzo zmienna. Znanych jest 9 podtypów NA oznaczanych od 1 do 9 [33, 39]. Segment 7 koduje białka M1 i M2. Białko M1 występuje w wirionie w największej ilości. Jego synteza odbywa się na matrycach mRNA o pełnej długości. Tworzy warstwę otaczającą strukturę nukleokapsydu. Białko M2 powstaje w wyniku splicingu mRNA białka M1. Występuje obficie w zakażonych komórkach, a tylko w niewielkiej liczbie kopii w cząsteczkach wirionu. Jest białkiem membranowym i tworzy kanały jonowe w błonie komórkowej. Segment 8 koduje białka NS1 i NS2. Białko NS1 wydaje się być jedynym białkiem niestrukturalnym wirusa, nie wykryto jego obecności w wirionach. Jest natomiast obficie syntetyzowane w zakażonych komórkach. Najmniejsze białko NS2 jest najmniej poznane [39]. Było uznawane za białko niestrukturalne, jednakże stwierdzono jego obecność w wirionach.

## 3. Struktura wirionu grypy

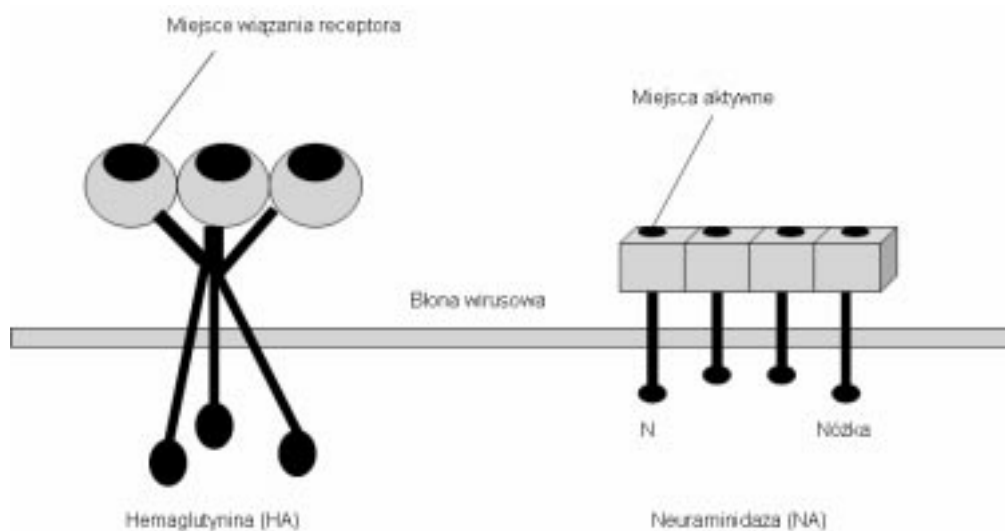
Strukturę wirusa grypy schematycznie przedstawiono na rys. 1. Zewnętrzną warstwę wirionu stanowi otoczek lipidowy, z której wystają liczne wypustki. Są



Rys. 1. Schematyczny przekrój przez wirusa grypy

to oligomery glikoprotein hemaglutyniny i neuraminidazy widoczne na powierzchni cząstek wirusowych stanowiące antygeny powierzchniowe. Około 80% stanowi hemaglutynina (HA), a 20% stanowi neuramini-

daza (NA) (rys. 2). Hemaglutynina ma kształt pałeczki o trójkątnym przekroju (trimer), natomiast neuraminidaza przyjmuje kształt grzybkowaty (tetramer). Ponadto w otoczce stwierdza się niewielkie ilości białka M2



Rys. 2. Schematyczny przekrój receptorów wirusa grypy

[33, 39]. Wnętrze wirionu stanowi nukleokapsyd, składający się kulistych segmentów genomowego RNA owiniętych wokół białka NP. Każdy segment połączony jest z kompleksem polimerazy RNA wirusa (białka PB1, PB2 i PA). Między otoczką a nukleokapsydem znajduje się warstwa białka M1 [33, 39].

#### 4. Rodzaje zmienności

Wirusy grypy cechują się znaczną zmiennością antygenową. Znane są dwa rodzaje zmienności: przesunięcie antygenowe (ang. antigenic drift) oraz reasortacja genu, nazywana skokiem antygenowym (ang. antigenic shift) [10, 24, 39].

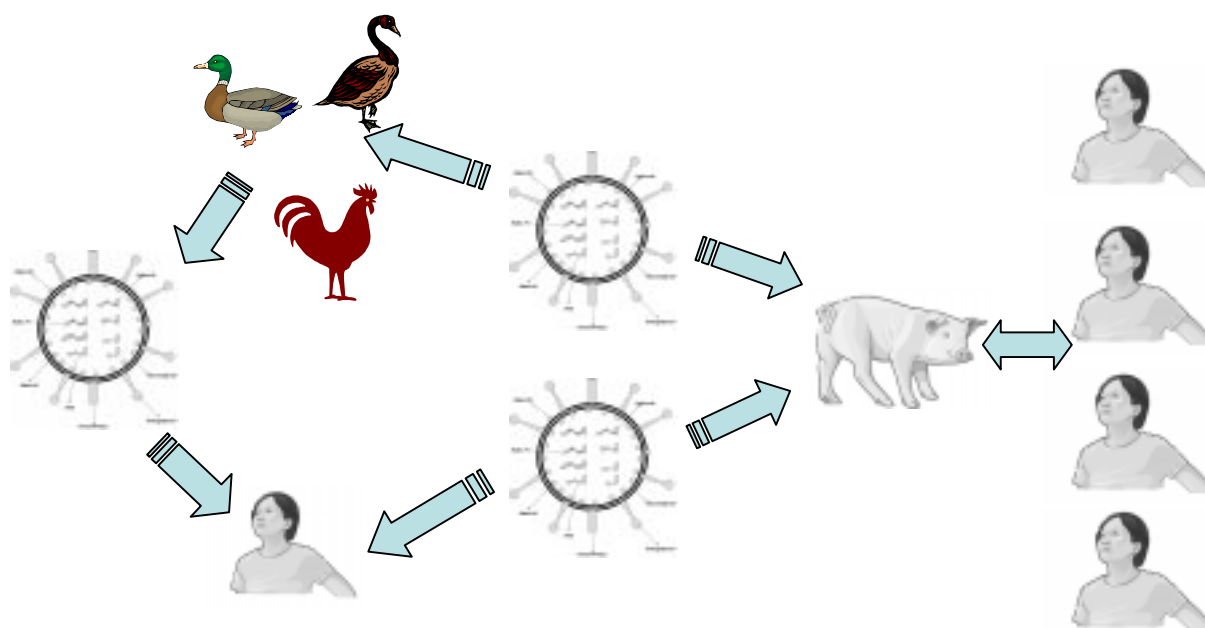
Przesunięcie antygenowe dotyczy drobnych zmian w segmentach kodujących antygeny powierzchniowe. Polimeraza RNA zależna od RNA jest enzymem dokonującym licznych pomyłek, polegających na wstawianiu błędnych zasad podczas syntezy potomnych łańcuchów RNA. Polimerazy RNA nie mają tzw. własności korektorskich i nie potrafią usunąć błędnych zasad (rys. 3). W wyniku tego powstają mutacje punktowe prowadzące do pojawiania się w następstwie selekcji nowych wariantów antygenowych uprzednio występujących podtypów. Tego typu zmiany są mniej groźne, ponieważ zmiany antygenowe są niewielkie i zwykle istniejące przeciwciała skierowane przeciwko uprzednio występującym podtypom są w stanie częściowo chronić gospodarza. Szczepy wirusowe, u których obserwuje się „dryft antygenowy” zwykle nie powodują epidemii, lecz tylko ograniczone zachorowania. Z powodu tego rodzaju zmienności co roku dla ludzi musi



Rys. 3. Przesunięcie antygenowe

być przygotowana inna szczepionka, zawierająca aktualne warianty antygenowe uprzednich podtypów. Natomiast, jeżeli antygenowy dryft wystąpi u szczepów ptasich, mogą powstać nowe, wysoce patogenne szczepy, potencjalnie będące w stanie wywołać epizootie, a nawet zmienić gospodarza i wywołać pandemię [24, 39].

Reasortacja czyli skok antygenowy może wystąpić, gdy komórka gospodarza zostanie jednocześnie zakażona przez dwa różniące się od siebie szczepy wirusa grypy. Dochodzi wówczas między nimi do wymiany poszczególnych segmentów RNA, co jest przyczyną poważnych zmian antygenowych na powierzchni wiriona. Skok antygenowy może dotyczyć każdego z ośmiu segmentów genomu wirusa. Potencjalnie może wystąpić 256 różnych genetycznie szczepów potomnych. Wymiana segmentów genomu jest również możliwa pomiędzy szczepami wirusa pochodzącymi od różnych gatunków zwierząt (rys. 4). Równoczesne zakażenie komórki szczepem ludzkim i ptasim może doprowadzić do powstania nowych podtypów różnych od już istniejących. Powstający wirus posiada część segmentów pochodzących z genomu od jednego szczepu, a część od drugiego szczepu. Ta zmienność pozwala



Rys. 4. Skok antygenowy

na uniknięcie mechanizmów obronnych gospodarza wytworzonych przeciwko innym, poprzednio występującym podtypom wirusa grypy. Powstający nowy podtyp nie napotyka na bariery ochronne i może bezkarnie atakować natywną immunologicznie populację. W efekcie może stać się podtypem dającym początek epidemii, a nawet pandemii [10, 24, 26].

Przesunięcie antygenowe jest procesem stałym i ciągłym, natomiast skok antygenowy pojawia się nagle, co kilkanaście/kilkadziesiąt lat [24, 26].

## 5. Grypa u różnych gatunków ptaków

Wirusy grypy A o różnych antygenach powierzchniowych występują u ptaków domowych, u ptaków dzikich, izolowano je również od ptaków ozdobnych. Wszystkie gatunki ptaków są podatne na zakażenie, jednakże stopień ich wrażliwości jest zróżnicowany. Definicja grypy ptaków podana przez UE jest następująca [42]:

1. „grypa ptaków” oznacza zakażenie drobiu lub innych ptaków wywołane przez jakiegokolwiek wirusa grypy typu A podtypów H5 lub H7 lub z indeksem dożylną zjadliwości wirusa (IVPI) u 6-cio tygodniowych kurcząt wynoszącym powyżej 1,2;
2. „wysoco zjadliwa grypa ptaków (HPAI)” oznacza zakażenie drobiu lub innych ptaków wywołane wirusami H5 i H7, z sekwencjami kodującymi liczne aminokwasy zasadowe w miejscu cięcia cząsteczki hemaglutyniny podobnymi do sekwencji obserwowanych w innych wirusach HPAI, wskazujących na możliwość rozszczepienia cząsteczki hemaglutyniny przez większość proteaz gospodarza lub z wirusami grypy ptaków z indeksem dożylną zjadliwości wirusa (IVPI) u 6-cio tygodniowych kurcząt wynoszącym powyżej 1,2;
3. „grypa ptaków o niskiej zjadliwości (LPAI) oznacza zakażenie drobiu lub innych ptaków wywołane wirusami grypy ptaków, których nie obejmuje definicja w ust. 2.

Największą wrażliwość na zakażenie wirusami grypy wykazują indyki, kury oraz inne gatunki drobiu grzebiącego. Wirusy patogenne dla jednego gatunku ptaków mogą być nie patogenne dla innych gatunków [1]. Jednakże słabo patogenne szczepy (LPAI – Low Pathogenic Avian Influenza) na skutek mutacji szybko mogą stać się szczepami wysoce zjadliwymi i wywołać wysoce zjadliwą grypę ptaków (HPAI – Highly Pathogenic Avian Influenza) [33]. Dzikie ptaki wodne, wędrownie, morskie zakażone bezobjawowo stanowią największy naturalny rezerwuuar i mogą przenosić wirusy grypy na znaczne odległości. Sugeruje się również, że prawdopodobnie od drobiu zakażają się ptaki wodne migrujące [1, 33]. W Rzymie pod koniec maja 2006 r.

odbyła się międzynarodowa konferencja poświęcona ptasiej grypie i roli ptaków dzikich, w której uczestniczyło około 300 naukowców ze 100 państw. Na konferencji tej usiłowano wyjaśnić jaką rolę spełniają dzikie ptaki, czy stanowią rezerwuuar wirusa czy są jedynie ofiarami kontaminacji od drobiu. Wiele pytań pozostało bez odpowiedzi, dotąd nie jest wyjaśnione pierwotne źródło infekcji, jednakże większość uczestników konferencji wskazało na ptaki domowe.

Wirus ptasiej grypy bytuje w środowisku. Przeżywanie jego umożliwiają działające osłaniająco cząstki organiczne. Zakaźność wirusów w kale ptaków wynosi 30–35 dni w 4°C i około 7 dni w 20°C. W 1g zakażonego kału koncentracja infekcyjnych cząstek wirusowych może wynosić nawet 10<sup>7</sup>. Większość środków dezynfekcyjnych skutecznie niszczy wirusy w środowisku [33, 39].

Zakażenie ptaków następuje drogą poziomą przez kontakt bezpośredni z chorymi lub zakażonymi bezobjawowo ptakami, a także pośrednio poprzez przebywanie w zakażonym środowisku. Źródłem zakażenia może też stać się człowiek oraz ssaki. Również woda z jezior i stawów zanieczyszczona odchodami ptaków stanowi bezpośrednie zagrożenie wybuchu epidemii. Wirus może w niej pozostać zakaźny do 105 dni. Chore ptaki wydalają wirus z wydzieliną z układu oddechowego, worka spojówkowego, a także z kałem do 30 dni po zakażeniu. Wydzieliny te oraz zainfekowany wirusem kał mogą zanieczyszczać narzędzia, sprzęt, wyposażenie ferm, pojazdy, ubrania i obuwie ludzi. W ten sposób wirus może być przeniesiony w obrębie jednej lub kilku ferm. Może się także przenosić drogą powietrzną. Ptaki zakażają się poprzez układ oddechowy, pokarmowy, spojówki lub błony śluzowe steku. Objawy kliniczne i zmiany anatomo-patologiczne zależą od zjadliwości szczepu wirusa, gatunku i wieku ptaków, zakażeń towarzyszących i czynników stresogennych [33]

Okres inkubacji choroby po zakażeniu naturalnym przez szczepy o wysokiej zjadliwości (HPAI) wynosi zwykle od kilku godzin do kilku dni, zachorowalność i śmiertelność dochodzi do 100%, natomiast szczepy o niskiej patogenności (LPAI) wywołują postać o łagodnym lub umiarkowanym przebiegu, śmiertelność jest zróżnicowana od 5% do nawet 70% [33, 39].

W przebiegu HPAI u kur i indyków początkowo obserwuje się depresję, spadek apetytu, brak koordynacji ruchowej, drżenie mięśni. Z otworów nosowych wypływa śluzowa wydzielina, a także widoczny jest obrzęk zatok podoczodołowych. Występuje zasinienie grzebienia i dzwonek, obrzęk głowy i szyi. Mogą pojawiać się przekrwienia na kończynach, szczególnie w okolicy stawu skokowego. U kur niosek dochodzi do zatrzymania produkcji jaj. Kury i indyki przeważnie padają pomiędzy 24–72 h po wystąpieniu pierwszych objawów klinicznych, śmiertelność sięga do

100%. Zakażone kaczki najczęściej nie wykazują objawów klinicznych ani zmian anatomo-patologicznych. U ptaków wodnych i morskich występuje zazwyczaj zakażenie subkliniczne z lekkimi objawami ze strony układu pokarmowego [33].

Zmiany anatomo-patologiczne stwierdzone u ptaków są różnorodne i zależą głównie od zjadliwości szczepu i gatunku ptaków. U drobiu grzebiącego zakażonego wirusem HPAI na sekcji w narządach wewnętrznych widoczne są liczne ogniska martwicy, szczególnie w wątrobie, śledzionie, trzustce, nerkach i płucach. Stwierdza się także wylewy krwawe na nasierdziu, błonach śluzowych układu oddechowego i pokarmowego, wysięki surowicze w osierdziu, martwicę mięśnia sercowego, przekrwienie płuc i zmętnienie worków powietrznych, czasami obrzęk mózgu [33, 39].

Ponieważ objawy kliniczne i zmiany anatomo-patologiczne są różnorodne, przeprowadzenie badań laboratoryjnych jest niezbędne dla potwierdzenia zakażenia wirusem grypy ptasiej. Polegają one przede wszystkim na izolacji wirusa i jego charakterystyce, czyli określeniu podtypu i właściwości patogennych. Badania serologiczne są stosowane w programach monitorowania zakażeń wirusami HPAI i do uzupełnienia rozpoznania. Izolację czynnika wirusowego przeprowadza się na zarodkach kurzych, a do jego identyfikacji polecana jest metoda hamowania hemaglutynacji pozwalająca na określenie typu hemaglutyniny, odczyn immunodyszki w żelu agarowym wykrywający obecność antygenów wspólnych dla wszystkich wirusów grypy A lub test immunoenzymatyczny ELISA. Dla określenia zjadliwości wirusa stosuje się test *in vivo* określający tzw. indeks dożyłnej zjadliwości (IPVI). Alternatywnie stosowana jest metoda RT – PCR, w której użyte startery oligonukleotydowe wykrywają miejsce genu kodującego miejsce cięcia hemaglutyniny, po czym jest on sekwencjonowany. Obecność licznych aminokwasów zasadowych w miejscu cięcia hemaglutyniny świadczy o wyizolowaniu wirusa influenzy A o wysokiej zjadliwości.

## 6. Historia zakażeń ludzi wirusami grypy ptasiej

Grypa stanowi bardzo szczególny rodzaj zoonozy [7]. Wprowadzenie metod biologii molekularnej do badań wirusologicznych pozwoliło na jednoznaczne wykazanie „ptasiego” pochodzenia szczepu wirusa grypy H1N1, który wywołał „hiszpankę”. Odpowiedzialny za „grypę azjatycką” szczep Asian 57 będący podtypem H2N2 posiadał trzy segmenty: HA, NA i PB1 z wirusa ptasiego, natomiast wirus Hong Kong/68 podtyp H3N2, będący przyczyną „grypy z Hong Kongu” posiadał segment HA i segment PB1 z wirusa występującego u kaczek [11].

U ludzi grypę wywołują wirusy posiadające hemaglutyniny H1, H2 i H3 specyficzne dla receptorów znajdujących się na powierzchni komórek ludzkich [39]. Aminokwasy w cząsteczce hemaglutyniny w pozycji 226 i 228 określają specyficzność receptorową. Hemaglutyniny z Leu 226 i Ser 228 charakterystyczne dla szczepów ludzkich rozpoznają struktury SA- $\alpha$ -2,6-Gal receptorów ludzkich. Natomiast hemaglutyniny subtypów ptasich H5 i H7 nie mają zdolności łączenia się z tymi receptorami. Posiadają one Gln-226 i Gly-228 i rozpoznają struktury receptorowe SA- $\alpha$ -2,3-Gal. Jednak u świń wykazano obydwa typy receptorów swoitych zarówno SA- $\alpha$ -2,6-Gal jak i SA- $\alpha$ -2,3-Gal. Dlatego też świnię spełniają rolę ogniwa pośredniego i stanowią „mikser”, w którym powstaje nowy zarażek przeważnie wysoce patogenny dla ludzi [12, 31]. W Azji z powodu ścisłych kontaktów ludzi z wieloma gatunkami zwierząt, jak również ogromnego zagęszczenia istnieją korzystne warunki do międzygatunkowej transmisji wirusów i powstawania nowych podtypów. Z tego powodu południowa Azja jest uznawana za światowe epicentrum grypy [26].

Jednakże okazało się, że wirusy grypy ptasiej mogą nawet bezpośrednio zakażać człowieka. W 1997 r. w Hong Kongu, stwierdzono na fermach drobiu wystąpienie HPAI. Wyizolowany szczep określono jako szczep H5N1. Po raz pierwszy w historii wirus ten został przeniesiony bezpośrednio z ptaków na człowieka. Odnotowano 18 zachorowań u ludzi, potwierdzonych zarówno izolacją wirusa H5N1 jak i badaniem serologicznym. Sześć osób zmarło. Źródłem infekcji we wszystkich przypadkach był kontakt ludzi z chorymi ptakami domowymi. [27, 32]. W obawie przed epidemią, pod koniec roku 1997 władze Hong Kongu wydały nakaz zlikwidowania ptaków. W ciągu doby zabito 1,5 mln kur, kaczek i gęsi [28, 32].

Na przełomie roku 1999/2000 na fermach drobiu we Włoszech wystąpiła epidemia influenzy o wysokiej zjadliwości. Czynnikiem etiologicznym był szczep H7N1, który uległ mutacji i ze szczepu o małej zjadliwości stał się szczepem o wysokiej zjadliwości. Zachorowania notowano u kurecząt, kur, indyków, bażantów, perliczek, strusi i kaczek. Zlikwidowano 14 mln ptaków. Nie notowano transmisji wirusa na człowieka [4].

Następna epidemia HPAI zagroziła Europie wczesną wiosną 2003 r. Zaczęła się w Holandii, która zgłosiła do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE) podejrzenie wystąpienia grypy ptasiej. Czynnikiem etiologicznym okazał się szczep H7N7. Ubojowi poddano około 30 mln ptaków, czyli około 1/3 populacji drobiu w Holandii. Podczas tej epidemii zostali zakażeni ludzie. U 89 osób pracujących w zakażonych fermach obserwowano zapalenie spojówek i objawy grypopodobne wywołane przez wirus H7N7. Zmarł lekarz weterynarii opiekujący się zakażoną fermą. Oprócz

Holandii ptasia grypa wystąpiła również na fermach w Belgii i w Niemczech. Z tego powodu w Belgii zlikwidowano około 3 mln, a w Niemczech około 80 000 drobiu. W krajach tych nie notowano zachorowań u ludzi [17, 30].

## 7. Ptasia grypa H5N1 – sytuacja na świecie 2003–2006

Wirus influenzy ptasiej H5N1 ponownie zaatakował pod koniec 2003 r. W grudniu 2003 r do Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt wpłynął raport z Południowej Korei, donoszący o wybuchu wysoce zjadliwej grypy u ptaków na dwóch fermach. Badania laboratoryjne wykazały, że przyczyną jest wirus H5N1, genotypowo nieco różniący się od wirusa występującego w 1997 r. Natychmiast zlikwidowano 1,8 mln kurcząt i kaczek, ale już w pierwszych dniach stycznia 2004 r. napływały raporty o wystąpieniu wysoce zjadliwej grypy wśród drobiu w następnych państwach. Wirus H5N1 zaatakował drób w Wietnamie. Straty wyniosły blisko 30 mln ptaków. Przebieg epidemii tutaj był dramatyczny. Wirus zaatakował również ludzi. Następnie influenza pojawiła się w Kambodży. W próbkach pobranych od padłych ptaków stwierdzono obecność wirusa H5N1 [5, 6].

Grypa zaatakowała także drób w Japonii. Był to pierwszy przypadek od 1925 r. Ptaki zlikwidowano. Nie było przypadków zakażeń ludzi [16]. Następnie wirus pojawił się w Tajlandii, w której choroba nigdy przedtem nie występowała. Straty wyniosły około 30 mln ptaków. Podobnie jak w Wietnamie zakażeniu ulegli ludzie.

W tym czasie przeprowadzano szczegółowe badania izolatów wirusa H5N1, otrzymanych z różnych krajów. Okazało się, że występują liczne odmiany genotypowe wirusa H5N1 różniące się od genotypu wirusa izolowanego w 1996 r. Najczęściej izolowanym, dominującym genotypem był tzw. genotyp Z. Genotyp ten podlega ciągłej ewolucji, staje się coraz bardziej letalny dla ssaków i bardziej patogenny dla dzikich ptaków wodnych, stanowiących dotychczas naturalny rezerwuuar wirusa [14, 15, 18]. „Cichym rezerwuarem” wirusa mogą być także kaczki domowe wydalające duże ilości wysoce patogenego wirusa, a przeważnie nie wykazujące żadnych objawów choroby. Genotyp Z, prawdopodobnie wprowadzony do różnych regionów Południowo-Wschodniej Azji z południowych Chin, dominował do połowy 2005 r. W kwietniu 2005 r. obserwowano masowe padnięcia różnych gatunków dzikich, migrujących ptaków w centralnej prowincji Chin na jeziorze Qinghai, gdzie zazwyczaj zbierają się setki tysięcy ptaków migrujących robiących przerwę w podróży na północ lub południe. Od padłych ptaków wyizolowano nowy wariant wirusa H5N1, o genotypie różniącym się od genotypu Z. Wariant ten był bardziej

letalny dla dzikich ptaków i eksperymentalnie zakaźny dla myszy [15]. Badania molekularne wykazały zmiany aminokwasów zlokalizowanych blisko miejsc wiązania się z receptorami komórki gospodarza, co mogło wpłynąć na transmisyjność i antygenowość wirusa. Dokonała się transmisja wirusa między migrującymi gęśmi, które przeniosły go wzdłuż szlaków migracyjnych. W ten sposób wirus zaczął wędrówkę na zachód. Najpierw pojawił się w Rosji i w Kazachstanie. Zakażone wirusem grypy ptaków migrujące ptaki wodne, korzystając z poidel używanych do pojenia drobiu, przeniosły infekcję na ptaki domowe. Choroba wystąpiła początkowo w sześciu rejonach Rosji, leżących w południowej i południowo-zachodniej Syberii, a po paru tygodniach była już w części europejskiej Rosji [8]. Następnie mongolskie władze weterynaryjne zawiadomiły o wykryciu wirusa H5N1 u wielu dzikich ptaków, w tym łabędzi i dzikich gęsi. Wirus prawdopodobnie przedostał się z części syberyjskiej Rosji i Kazachstanu [8]. W następnych miesiącach prawie codziennie napływały meldunki do OIE o pojawieniu się ptasiej grypy w różnych krajach. W Rumunii zanotowano ogniska choroby u kur i kaczek w wioskach leżących w delcie Dunaju, niedaleko granicy z Bułgarią i Ukrainą. Również Turcja doniosła o wystąpieniu ptasiej grypy w stadach indyków, hodowanych na otwartej przestrzeni. Greckie Ministerstwo Rolnictwa wysłało raport o wystąpieniu ptasiej grypy u drobiu i ptaków migrujących na wyspie Chios na Morzu Egejskim. Następnie choroba pojawiła się w Chorwacji i w kolejnych krajach europejskich [15]. W pierwszej połowie 2006 r. grypa ptasia zaatakowała większość krajów w Europie i pojawiła się w Afryce. Wprowadzenie wirusa H5N1 na kontynent afrykański nastąpiło poprzez sektor drobiarski, handel drobiem legalny lub nie legalny, przemieszczanie się ludzi i zwierząt, brak odpowiedniej bioasekuracji itp. Jeżeli wirus stanie się endemiczny we wschodniej Afryce, może wzrosnąć ryzyko jego ewoluowania przez mutację lub reasortację do szczepów mogących być transmitowanymi do i między ludźmi. Ścisły kontakt ludzi ze zwierzętami, nieodpowiednie nawyki higieniczne, niska kultura sanitarna, bieda, niska wykrywalność chorób w połączeniu z bogatym, wilgotnym i ciepłym klimatem oraz odpowiednim ekosystemem może stworzyć idealne warunki do powstania pandemicznych szczepów wirusa. Wprawdzie w Afryce, w porównaniu z Azją nie ma takiego zagęszczenia ludności, ale warunki w jakich trzyma się drób są podobne. Drób jest często jedynym źródłem mięsa i dochodów [19]. Obecnie w Afryce zaatakowanych jest 8 państw, 26 państw w Europie i rejonach Kaukazu oraz 15 krajów azjatyckich. Ponad 30 krajów potwierdziło wystąpienie ognisk grypy u drobiu, w 13 krajach europejskich zanotowano H5N1 tylko u ptaków dzikich, przeważnie były to łabędzie.

Analiza sekwencyjna izolatów wirusowych pochodzących od padłych, dzikich ptaków w Kazachstanie, Rosji, Turcji, Rumunii i większości krajów UE wykazała ściśle pokrewieństwo z wirusem izolowanym w Chinach w okolicy jeziora Qinghai. Natomiast wirusy izolowane od drobiu w Wietnamie, Chinach, Tajlandii i Indonezji różniły się i stanowią inną grupę filogenetyczną. Ponadto wykazano w różnych częściach Azji różne szczepy wirusa H5N1 znajdujące się w różnych miejscach drzewa filogenetycznego. Mutacje punktowe zaszły w PB2, NP i NS. Transmisja wirusa drób – do – drobiu zmierza do endemicznego występowania wirusa w tym regionie. Ponadto wyizolowano wirus H5N1 od zdrowych migrujących ptaków, mogących przynieść go na duże odległości [5, 6, 15]. Wszystkie te badania podtrzymują hipotezę, że Chiny stanowią „epicentrum grypy”

### 8. Zakażenia wirusem H5N1 ludzi w okresie 2003–2006

W ciągu 3 lat wirus H5N1 pojawił się na trzech kontynentach krążąc między ptactwem dzikim a drobiem. Już na samym początku, w grudniu 2003 r. w Wietnamie opisano pierwszy przypadek bezpośredniej transmisji wirusa H5N1 od drobiu na człowieka. W latach 2003–2004 zostały zaatakowane dwa kraje: Wietnam i Tajlandia. W tym okresie odnotowano 46 przypadków zachorowań i 32 przypadki zakończone śmiercią pacjentów. W 2005 r. pojawiły się zachorowania u ludzi w pięciu krajach. Do Wietnamu i Tajlandii dołączyła Kambodża, Chiny i Indonezja. Wirusem H5N1 od ptaków zakażyło się 95 osób, a 41 zmarło. W pierwszej połowie roku 2006 chorobę u ludzi zanotowano w 10 krajach: Azerbejdżanie,

Kambodży, Chinach, Dżibuti, Egipcie, Indonezji, Iraku, Tajlandii, Turcji i Wietnamie. W tym okresie zachorowało 86 osób, zmarło 56. Ogółem od grudnia 2003 r. do 14 lipca 2006 r. na całym świecie zachorowało 230 osób, a zmarło 132 (tabela I) [40]. Z uwagi, że WHO odnotowuje jedynie przypadki potwierdzone laboratoryjnie, rzeczywista liczba zakażeń może być znacznie wyższa. Dla zrozumienia stopnia narażenia ludzi i ich ostrzeżenia przed mogącą wybuchnąć pandemią WHO opracowała sześciofazową skalę zagrożenia [40]. Obecnie jesteśmy w 3 fazie, zwanej okresem pandemicznego alertu. Oznacza to, że pojawiły się infekcje ludzi nowym, dotychczas nie występującym podtypem wirusa, lecz nie występuje lub występuje jedynie sporadycznie przenoszenie bezpośrednie wirusa z człowieka na człowieka. Dotychczas zanotowano dwa takie przypadki. W Tajlandii śmiertelnie chora córka zakażyła opiekującą się nią matkę, która po paru dniach pełno objawowej choroby również zmarła. Badania laboratoryjne potwierdziły obecność wirusa H5N1. Drugi przypadek, który zdarzył się w Wietnamie był podobny i też miał miejsce w obrębie rodziny [10, 37].

Analiza szczepów wirusa H5N1 wyizolowanych od zakażonych osób wykazała, że do 2005 r. wszystkie zakażenia były wywołane przez jeden podtyp wirusa, który zakażył ludzi w Wietnamie, Kambodży i Tajlandii. Jest to wirus o genotypie Z+, podobny do genotypu wirusa Z z wyjątkiem braku delecji w NA genie. W 2005 r. pojawił się genetycznie odmienny wariant wirusa, który jest odpowiedzialny za obecny atak na Indonezję. Wykazuje on duże pokrewieństwo z podtypem izolowanym od ptaków dzikich w Chinach w okolicy Qinghai Lake. Są już dwie genetycznie odrębne formy wirusa H5N1, a można się spodziewać, że będzie on podlegał kolejnym zmianom [12, 31].

Tabela I

Zachorowania i zgony u ludzi wg WHO. 14 czerwca 2006 r.

Kraj	2003		2004		2005		2006		Łącznie	
	CH*	Z*	Z	CH	Z	CH	Z	CH	Z	CH
Azerbejdżan	0	0	0	0	0	0	8	5	8	5
Kambodża	0	0	0	0	4	4	2	2	6	6
Chiny	0	0	0	0	8	5	11	7	19	12
Dżibuti	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Egipt	0	0	0	0	0	0	14	6	14	6
Indonezja	0	0	0	0	17	11	36	30	53	41
Irak	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
Tajlandia	0	0	17	12	5	2	0	0	22	14
Turcja	0	0	0	0	0	0	12	4	12	4
Wietnam	3	3	29	20	61	19	0	0	93	42
Łącznie	3	3	46	32	95	41	85	55	230	132

\* – zachorowania, \*\* – zgony

Jak już wspomniano aminokwasy w pozycji 226 i 228 określają specyficzność receptorową hemaglutyniny. Hemaglutyniny z Leu 226 i Ser 228 charakterystyczne dla szczepów ludzkich, rozpoznają struktury S.A.- $\alpha$ -2,6-Gal receptorów ludzkich, natomiast HA z Gln-226 i Gly-228 są typowe dla szczepów ptasich i rozpoznają S.A.- $\alpha$ -2,3-Gal. Ta różnica pozwala na zrozumienie dlaczego replikacja ptasich szczepów grypy u człowieka jest ograniczona i dlatego transmisja wirusa H5N1 od człowieka do człowieka jest trudna. Wykazano, że obecnie krążące szczepy ptasiej grypy, które wywołały u ludzi ciężkie, śmiertelne zapalenie płuc zaatakowały i replikowały się w komórkach dolnych partii dróg oddechowych, które mają struktury membranowe S.A.- $\alpha$ -2,3-Gal. Jest to zgodne z obrazem klinicznym pacjentów, u których obserwowano ciężką infekcję dolnych dróg oddechowych z szybką progresją do zapalenia płuc [12, 21, 31]. Ponadto stwierdzono, że wirus H5N1 wciąż mutuje, bo aminokwasy zlokalizowane blisko miejsca wiązania receptorów ulegają zmianom [25]. Zmiany tego rodzaju wykryto w szczepie izolowanym od zmarłego po zakażeniu wirusem H5N1 Wietnamczyka. Wykazano szereg podobieństw tego szczepu z zrekonstruowanym szczepem wirusa H1N1, który wywołał „hiszpankę” [12, 21, 31]. Zauważono też zmiany w wirusowej polimerazie PB2 [12]. W ptasich szczepach grypy w pozycji 627 znajduje się zazwyczaj kwas glutaminowy, podczas gdy w ludzkich szczepach jest lizyna. Jednakże szczepy H5N1 izolowane od pacjentów zmarłych po zakażeniu wirusem H5N1 posiadały lizynę w pozycji 627. Również lizyna w tej pozycji znajduje się w szczepach pochodzących od dzikich ptaków wodnych z jeziora Qinghai w Chinach [12].

Analiza wszystkich przypadków zakażeń człowieka wirusem H5N1 wykazała, że następowały one w wyniku bardzo ścisłego kontaktu z chorym drobiem, a jedynie w Azerbejdżanie z dzikimi ptakami. Średnia wieku zakażonych osób wynosi 24 lata, mediana 20 lat, rozpiętość wieku wynosi od 3 miesięcy do 75 lat. Współczynnik śmiertelności w zależności od grupy wiekowej wynosi od 73% (grupa wiekowa między 10–19 lat) do 18% u osób powyżej 50 lat. Biorąc pod uwagę wszystkie przypadki razem śmiertelność wynosi obecnie 57%, a w bieżącym roku jest wyższa i kształtuje się na poziomie 64%. Okres inkubacji choroby wynosi 4 do 5 dni, zgony zwykle występują między 8 a 11 dniem po wystąpieniu pierwszych objawów [41].

Zakażenie wirusem H5N1 rozpoczyna się zwykle jak normalna, sezonowa grypa: bólem głowy, gorączką, mięśniobólami i biegunką. Następnie rozwija się zespół ciężkiej niewydolności oddechowej, niewydolność nerek, wątroby i następuje zejście śmiertelne. Podobny przebieg choroby opisano w przebiegu „hiszpanki”. Opisano też [2, 9] atypowy przebieg choroby

u kilku pacjentów w 2004 r. Wietnamie, u których występowała biegunka i zapalenie mózgu, przy braku zmian w układzie oddechowym.

## 9. Zakażenia ssaków wirusem H5N1

W grudniu 2003r na samym początku wybuchu epidemii H5N1 u drobiu w Tajlandii, po spożyciu kurcząt pochodzących z zakażonego stada, padły dwa tygrysy i dwa lamparty w ZOO [35]. Z ich narządów wewnętrznych wyizolowano wirus H5N1. Nieco później również w Tajlandii padły koty domowe po zjedzeniu chorych gołębi. Wyizolowany od nich wirus był zidentyfikowany jako genotyp Z, lecz posiadał w pozycji 627 w genie PB2 lizynę, a nie kwas glutaminowy, który występował w izolatach ptasich [3]. Dotychczas kotowate nie były uznawane za zwierzęta wrażliwe na zakażenie wirusem grypy. Był to pierwszy przypadek choroby i śmierci u kotów, spowodowany tym wirusem. Eksperymentalne zakażenie kotów domowych wykazało, że wirus H5N1 nie tylko je zakaża, ale także następuje transmisja wirusa między kotami [29]. Zakażenie tygrysów w ZOO tajlandzkim obserwowano ponownie w 2004 r. Padło wówczas 147 tygrysów ze stada liczącego 441 sztuk [13]. Zakażenie nastąpiło po nakarmieniu zwierząt chorymi kurczętami. Infekcje kotów obserwowano również w 2006 r. w Europie, w Niemczech i Austrii. Ponadto w Niemczech wirus H5N1 izolowano także od padłej kuny. Jest to pierwszy udokumentowany przypadek zakażenia tego gatunku zwierzęcia wirusem grypy [12].

Wirus H5N1 zakażył także inne ssaki. Izolowano go od padłych cywet w Wietnamie. W Chinach wykryto infekcję świń wirusem H5N1. Choroby nie stwierdzono u psów, jednakże badania serologiczne wykazały u nich obecność przeciwciał.

## 10. Globalne przygotowania zabezpieczające przed pandemią

Po raz pierwszy w historii wydarzyła się epidemia u zwierząt o tak szerokim zasięgu. Do lat dziewięćdziesiątych XX wieku ogniska choroby były ograniczone do jednej fermy drobiu, w następnych latach odnotowano przypadki występowania choroby w kilku fermach znajdujących się na terenie jednego państwa. Na przełomie 2003/2004 r. zaatakowanych zostało wiele ferm w 9 krajach azjatyckich, obecnie wirus H5N1 notowany jest na trzech kontynentach, w 50 krajach. Według raportu FAO na skutek HPAI na świecie padło lub zlikwidowano 209 milionów ptaków. Jest to więcej niż w poprzednich latach łącznie. Straty finansowe są ogromne i sięgają kilkuset, a nawet kilku tysięcy milionów

dolarów. Eksperti z trzech międzynarodowych organizacji zajmujących się sprawami zdrowia, a mianowicie: Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), Organizacji Narodów Zjednoczonych do Spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) oraz Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE) oświadczyli, że „ptasia grypa, występująca w wielu krajach świata może stanowić w skali świata poważne zagrożenie dla zdrowia ludzkości” [42].

Przez cały czas prowadzone są badania laboratoryjne nad wirusem oraz skalą jego rozprzestrzeniania się i sposobami kontroli powstałego stanu zagrożenia. Trwają prace nad przygotowaniem szczepionki oraz nowymi, skutecznymi lekami przeciwwirusowymi. Rola tych badań jest priorytetem w działalności prowadzonej w zakresie ochrony zdrowia publicznego. „Jest możliwość konkretnego zredukowania ryzyka pandemii u ludzi wywołanej przez wirus H5N1 poprzez zniszczenie wirusa u jego źródła – u zwierząt” – powiedział J. D o m e n e c h, szef służb weterynaryjnych w FAO [42]. Opracowuje się wspólną światową strategię do walki z wysoko patogenną ptasią gripą, stworzono system szybkiego ostrzegania pozwalający na natychmiastowe działania. Wykorzystuje się satelity, sieci komputerowe, a nawet turystów do monitorowania sytuacji u dzikich ptaków. Ważność problemu oddają słowa dyrektora generalnego OIE – dr B. V a l l a t a: „Wczesne wykrycie zarazki i szybka reakcja są czynnikami rozstrzygającymi w ochronie przed światowym kryzysem związanym z pojawieniem się w przyszłości choroby zwierząt potencjalnie mogącej przenieść się na ludzi” [42]. Z kolei J. A d a m s – vice-prezydent Banku Światowego wzywa w trybie natychmiastowym do poszukiwania źródeł finansowania działań zmniejszających światowe zagrożenie [42].

## 11. Sytuacja w Polsce

W Polsce nie notowano wystąpienia grypy w stadach drobiu. Podobnie jak w większości krajów UE była notowana jedynie u dzikich ptaków. Wysoce zjadliwa grypa ptaków znajduje się na liście chorób zakaźnych zwierząt podlegających obowiązkowi zwalczania [38]. Zwalczanie wysoce zjadliwej grypy ptasiej polega na przerwaniu możliwości kontaktów wirusa z ptakami, czyli uniemożliwieniu wnikięcia wirusa do fermy, a jeśli to się nie uda, uniemożliwieniu wydostania się wirusa z fermy. Są to stadnardeowe działania takie jak: zlokalizowanie źródła infekcji i wyeliminowanie źródła zakażenia, likwidacja wszystkich gatunków zakażonych ptaków, utylizacja padłych i zlikwidowanych ptaków, mięsa, jaj oraz produktów drobiowych, odkażanie obiektów oraz pomieszczeń, wprowadzenie kwarantanny. Likwidacji podlegają również ptaki znajdujące się w promieniu 1 km od

ogniska oraz w fermach mających kontakt z okęgim zapowietrzonym o promieniu 3 km i zagrożonym o promieniu 10 km [23]. Wprowadza się też rozszerzony monitoring obejmujący cały kraj i uwzględniający ptaki wolnożyjące. Główny lekarz weterynarii może zarządzić pod urzędowym nadzorem szczepienia interwencyjne, jako uzupełnienie innych środków zwalczania HPAI [21, 22].

Wszystkie koszty związane z powyższymi działaniami są pokrywane zarówno z budżetu państwa jak i współfinansowane przez Unię Europejską. Koszt likwidacji tylko jednego ogniska wynosi przeciętnie około 600 tysięcy zł. Do tych kosztów należy doliczyć straty wynikające z wstrzymania eksportu drobiu i produktów pochodzenia drobiowego oraz utraty rynków zagranicznych [23]. Zapobiec wystąpieniu ptasiej grypy może tylko zdyscyplinowanie społeczeństwa i konsekwentna realizacja działań prewencyjnych określonych w aktach prawnych, obowiązujących we wszystkich krajach Unii Europejskiej.

## Piśmiennictwo

- Alexander D.J.: A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol.* **74**, 3–13 (2000)
- Apisarntharak A. i wsp. Atypical avian influenza (H5N1). *Emerg. Infect. Dis.* **10**, 1321–1324 (2004)
- Amonsin A., Payyungporn S., Theamboonlers A., Thanawongnuwech R., Suradhat S., Pariyothorn N.: Genetic characterization of H5N1 influenza A viruses isolated from zoo tigers in Thailand. *Virology*, **344**, 480–491 (2006)
- Capua J., Mutinelli F., Marangon S., Alexander D.J.: H7N1 avian influenza in Italy (1999–2000) in intensively reared chickens and turkeys. *Avian Path.* **29**, 537–543 (2000)
- Chen H., Smith G.J.D., Zhang S.Y., Qin K., Wang J., Li K.S., Webster R.G., Peiris J.S., Guan Y.: H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature*, **436**, 191–192 (2005)
- Chen H.: Establishment of multiple sublineage of H5N1 influenza virus in Asia: implications for pandemic control. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 2845–2850 (2005)
- Cohen J.: The flu pandemic that might have been. *Science*, **277**, 1600–1601 (1997).
- Coulombier D., Paget J., Meijer A., Ganter B.: Highly pathogenic avian influenza reported to be spreading into western Russia. *Surveillance Report*. 18 August. (2005)
- De Jong M.: Fatal avian influenza A (H5N1) in a child presenting with diarrhea followed by coma. *N. Engl. J. Med.* **352**, 686–691 (2005)
- Hayden F., Croisier A.: Transmission of avian influenza viruses to and between humans. *JID*, **192**, 1–4 (2005).
- Kawaoka Y., Krauss S., Webster R.G.: Avian to human transmission of the PB1 gene of influenza A virus in the 1957 and 1968 pandemics. *J. Virol.* **63**, 4603–4608 (1989)
- Kuiken T., Holmes E., McCouley J., Rimmelzwaan G.F., Williams C.S., Grenfell B.T.: Host species barriers to influenza virus infections. *Science*, **312**, 394–397 (2006)
- Kuiken T., Immellzwaan G., Riel D., Amerongen G., Baars M., Fouchier R.: Avian H5N1 influenza in cats. *Science*, **310**, 306–310 (2004)

14. Li K.S., Guan Y., Wang H.L.: Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*, **430**, 209–213, (2004)
15. Liu J.: Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science Express*. [www.sciencemag.org/cgi/contens/abstract/1115273](http://www.sciencemag.org/cgi/contens/abstract/1115273) (2005)
16. Mase M., Tsukamoto K., Imada T.: Characterization of H5N1 influenza A virus isolated during 2003–2004 outbreaks in Japan. *Virology*, **332**, 167–176 (2005)
17. *Official Journal of European Commission*. Avian influenza (AI) in the Netherlands, Belgium and Germany – chronology of main events – update 4 Jun. (2003)
18. OIE. Terrestrial Animal Health Standards Commission. Avian influenza – Brief review, December, App. III (2003)
19. OIE. Bulletin. Avian influenza: International Community takes action. 1 (2006)
20. van Riel D., Munster V.J., Witt E., Rimmelzwaan G.F., Fouchier R., Osterhaus A.D., Kuiken T.: H5N1 virus attachment to lower respiratory tract. *Science*, **312**, 399–401 (2006)
21. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi. 8 września 2004 r. – W sprawie zwalczania wysoce zjadliwej grypy ptaków d. pomoru drobiu. Dz. U. Nr 215, poz. 2187 (2004).
22. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi. 15 października 2005 r. – W sprawie zarządzenia środków związanych z zagrożeniem wystąpienia wysoce zjadliwej grypy ptaków d. pomoru drobiu. (Dz. U. Nr 203, poz. 1688 (2005)
23. Rudy A., Kuczowski M. Przypomnienie o influencji ptaków. *Hodowca Drobiu*, **9**, 46–53 (2005)
24. Scholtisek C.: Molecular evolution of influenza viruses. *Virus Genes*, **11**, 209–215 (1995)
25. Shinya K.: Influenza virus receptors in the human airway. *Nature*, **440**, 435–436 (2006)
26. Shortridge K.F.: The influenza conundrum. *J. Med. Microbiol.* **46**, 813–815 (1997)
27. Shortridge K.F., Gao P., Guan Y., Jto T., Kawaoka Y., Markwell D., Takada A., Webster R.G.: A review of interspecies transmission of influenza viruses: the Hong Kong perspective. W: Proc. Europ. Soc. Veterinary Virology Symp. „Influenza viruses of wild and domestic animal”. 15–18 May 1999. *Ghent. Vet. Microbiol.* **74**, 141–147 (2000)
28. Sims L.D., Ellis T.M., Liu K.K.: Avian influenza in Hong Kong 1997–2002. *Avian Dis.* **47**, 832–838 (2003)
29. Songserm T., Amosin A., Jam-on R., Sae-Heng N., Meemak N., Parlyothorn N., Payungporn S., Theambooniers A., Poovorawan Y.: Avian influenza H5N1 in naturally infected domestic cat. *Emerg. Infect. Dis.* **12**, 681–683 (2006)
30. Stegeman A., Bouma A., Elbers ARW.: Avian influenza A virus epidemic in The Netherlands in 2003: course of the epidemic and effectiveness of control measures. *J. Infect. Dis.* **190**, 2088–2095 (2004)
31. Stevens J., Blixt O., Tumpey T., Taubenberger J.K., Paulson J.C., Wilson J.A.: Structure and receptor specificity of the hemagglutinin from an H5N1 influenza virus. *Science*, **312**, 404–410 (2006)
32. Suarez D.L., Perdue M.L., Cox N., Rowe T., Bender C., Huang J., Swaine D.E.: Comparison of highly virulent H5N1 influenza A viruses isolated from humans and chickens from Hong Kong. *J. Virol.* **72**, 6678–6688 (1998)
33. Swayne D.E., Halvorson D.A.: Avian Influenza. [W]. *Diseases of Poultry*, XI ed. Iowa State Press, Blackwell Publ. Comp. s. 135–160 (2003)
34. Taubenberger J.K.: Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*, **437**, 889–893 (2005)
35. Thanawongnuwech R., Amosin A., Tantilertcharoen R.: Probable tiger-to-tiger transmission of avian influenza (H5N1). *Emerg. Infect. Dis.* **11**, 699–701 (2005)
36. Tumpey T.M.: Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*, **310**, 77–80 (2005)
37. Ungchusak K., Auewarakul P., Dowell S.F.: Probable person-to-person transmission of avian influenza (H5N1). *N. Eng. J. Med.* **352**, 333–340 (2005)
38. Ustawa „O ochronie zdrowia zwierząt oraz zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt” Dz. U. Nr 69, poz. 625, z późn. zm. (2004)
39. Webster R.G., 1999. Influenza viruses (Orthomyxoviridae). W: *Encyclopedia of Virology*. T. 2, red.: Granoff F., Webster R.G., Academic Press, San Diego, 824–829
40. WHO. Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A (H5N1). Epidemic and pandemic Alert and Response. [www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/country/cases](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases) 14 July (2006)
41. WHO. Weekly epidemiological record. **81**, 249–260 (2006) [www.who.int/wer](http://www.who.int/wer)
42. Zarządzenie Rady Europy 92/40/EEC. 19 maja 1992. – W sprawie wprowadzenia zarządzenia w celu zwalczania grypy ptaków.



**Jerzy Kulczycki**

I Klinika Neurologiczna Instytutu Psychiatrii i Neurologii w Warszawie, tel. 0 22 45 82 812

*Streszczenie:* BSE jest jedyną zwierzęcą chorobą prionową, która odgrywa niekiedy przyczynową rolę w powstawaniu encefalopatii gąbczastej u ludzi (wariant CJD). Wykazano już niejednokrotnie, że w okresie inkubacji i w fazach klinicznych tej ostatniej choroby cząsteczki PrPsc są obecne w tkankach poza ośrodkowym układem nerwowym, szczególnie w narządach chłonnych. Sytuacja taka stwarza groźbę dalszego przenoszenia infekcji prionowej przez limfocyty w czasie różnych zabiegów medycznych, włącznie z transfuzją krwi. Ta ostatnia możliwość została już udowodniona w kilku przypadkach. Stąd powstaje konieczność opracowania czułego i swoistego testu na obecność białek prionowych i wprowadzenie go do kontrolowania wszystkich dawców krwi.

#### **Creutzfeldt-Jakob disease risk problem**

*Abstract:* BSE is the only animal prion disease playing causative role in development of human spongiform encephalopathy (variant CJD). Many studies have shown that during the incubation period and clinical phases of the last disease PrPsc particles are consistently present also outside of the central nervous system, particularly in lymphoid tissue. This situation constitutes threat of further transmission of the prion infection by peripheral lymphoid cells during various medical procedures including blood transfusion. The last possibility has been soon confirmed in some cases. Therefore it is urgently needed introduction of a sensitive and specific test for prion protein that could be used in all blood donors.

---

**Słowa kluczowe:** wariant choroby Creutzfeldta-Jakoba, dPrP w tkance chłonnej, przetaczanie krwi  
**Key words:** variant CJD, dPrP in lymphoid tissue, blood transfusion

---

Znane obecnie encefalopatie gąbczaste u ludzi występują pod postacią kilku odmian choroby Creutzfeldta-Jakoba (CJD) oraz zespołów traktowanych jako odrębne jednostki chorobowe. Ich wspólną cechą jest podobny, choć wykazujący ilościowo i lokalizacyjnie szerokie spektrum zmian, obraz neuropatologiczny. Obecnie przyjmuje się również, w myśl hipotezy prionowej, że mechanizmem etio-patogenetycznym wszystkich tych encefalopatii jest nieprawidłowa konformacja białka PrP. Wpływ na powstawanie tych zmian mogą mieć czynniki zewnętrzne, pod postacią przedostania się do organizmu wadliwie ukształtowanych cząsteczek tego białka lub wewnętrzne, związane z obecnością różnych mutacji w genie PRNP znajdującym się na 20-tym chromosomie. W warunkach naturalnych żadna z chorób prionowych człowieka nie wykazuje cech infekcji, nie jest zaraźliwa, może poza kuru, ale trudno traktować przeciw rytualny kanibalizm jako zachowanie „naturalne”. Również nie były znane do lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku przypadki zakażenia ludzi zwierzęcą encefalopatią gąbczastą (np. scrapie).

Jednak pojawienie się w W. Brytanii masowych zachorowań krów na BSE, w drugiej połowie lat osiemdziesiątych, spowodowało duże zaniepokojenie możliwością zakażenia innych zwierząt, a również ludzi.

Przewidywania te, niestety, sprawdziły się [1, 2, 10]. Na początku lat dziewięćdziesiątych pojawiły się, nie widywane dotychczas, przypadki encefalopatii gąbczastej u niektórych przeżuwaczy i dużych kotów w ogrodach zoologicznych, a również u kotów domowych. Kilka lat później, w roku 1996, rozpoznano w W. Brytanii nietypowe przypadki choroby Creutzfeldta-Jakoba u ludzi młodych. Badania laboratoryjne i doświadczalne wykazały, że w etiologii tych nowych postaci encefalopatii gąbczastej istotną rolę odgrywają priony BSE.

Obserwacje i badania prowadzone w reaktywowanym w roku 1990-tym Ośrodku Nadzoru nad CJD, w Edynburgu, pozwoliły na bliższe określenie cech klinicznych nowej postaci tej choroby, nazwanej początkowo nowym wariantem, a następnie wariantem CJD (vCJD). Ustalono, że w większości (ok. 70%) przypadków choroba zaczyna się objawami psychiatrycznymi – urojeniami, agresją, depresją – oraz/lub bólami, które mogą przypominać polineuropatię. W rzeczywistości są to bóle pochodzenia mózgowego, związane ze zmianami we wzgórzu (thalamus). Przedmiotowo stwierdzane objawy neurologiczne pojawiają się dopiero po 5–6 miesiącach od chwili, którą można przyjąć za początek choroby. Taki początek vCJD powoduje, że pacjenci trafiają najczęściej do psychiatrii i właściwe rozpoznanie może być ustalone znacznie później. Również badania laboratoryjne, jak EEG i ocena obecności białka 14–3–3 w płynie m.-rdz, tak pomocne w diagnostyce CJD, nie mają w vCJD niemal

żadnego znaczenia. Dopiero w roku 2000 doszukano się w obrazach MR mózgu dość typowych dla tej choroby symetrycznych zmian w tylnej części wzgórza (t.zw. objaw poduszki – pulvinar sign) o czułości ok. 79% i swoistości dochodzącej do 100% [3]. Drugą, bardzo ważną możliwością przyżyciowego potwierdzenia podejrzenia vCJD jest stwierdzenie obecności białka prionowego w narządach chłonnych. Sprowadza się to zazwyczaj do badania migdałka podniebiennego [4]. Badanie, jak się wydaje, ma swoistość 100%, ponieważ dało ono wynik pozytywny we wszystkich poddanych mu przypadkach vCJD, a jednocześnie jest zawsze negatywne w innych postaciach CJD. To ostatnie badanie dowodzi obecności białka prionowego w układzie limfatycznym chorych z wariantem CJD, co wyróżnia tę postać choroby wśród innych encefalopatii gąbczastych i nasuwa pewne implikacje w odniesieniu do możliwości jej przenoszenia, a więc i związanych z tym zagrożeń epidemiologicznych.

Obecna sytuacja epidemiologiczna vCJD, po upływie ok. 10-ciu lat od chwili pierwszej obserwacji, wydaje się nie potwierdzać katastroficznych przewidywań szerzenia się tej choroby wśród ludzi. Początkowo notowano około 10–12 zachorowań rocznie, głównie w W. Brytanii. W latach 1999 i 2000 pojawiała się w ciągu roku ok. 30 nowych przypadków. W ostatnich latach liczba świeżych zachorowań wyraźnie maleje. W roku 2005 i w pierwszym kwartale 2006 zarejestrowano po jednym zachorowaniu. W sumie w W. Brytanii było do chwili obecnej 161 chorych. Poza tym krajem rozpoznano po jednym przypadku w Portugalii, w Hiszpanii Irlandii i we Włoszech. Niepokojąco wzrasta liczba chorych we Francji (do marca b.r. wynosi ona 17 osób). W Polsce, podobnie jak w Niemczech vCJD dotychczas nie rozpoznano.

Wśród czynników, które mogą mieć wpływ na liczbę nowych przypadków wymienia się m.in. [8]:

1. Bariere gatunkową. Przekonywującym dowodem jej istnienia jest fakt zupełnego braku zachorowań wśród psów, przy znacznej zapadalności wśród kotów, a poza tym dysproporcję między ogromną liczbą przypadków BSE w W. Brytanii (setki tysięcy) i stosunkowo małą liczbą przypadków wariantu CJD u ludzi (w ciągu 10 lat).
2. Okres inkubacji vCJD. Ocenia się go (przy założeniu, że do infekcji dochodzi przez konsumpcję produktów zwierzęcych) na ok. 10 lat
3. Wielkość całkowitej dawki zainfekowanego materiału. Można zakładać, że obywatele W. Brytanii konsumowali „zakażone” pożywienie przez okres 10 lat. Stąd nieco szokujące stwierdzenie z Ośrodka w Edynburgu, że jednym z czynników ryzyka jest tu... stały pobyt w Zjednoczonym Królestwie.
4. Liczbę osób ekspozowanych na konsumpcję produktów pochodzących od krów.
5. Dość wątpliwe, jak do niedawna sądzono, czynniki jatrogenne.

Istotne znaczenie ma, jak się okazało, układ w kodonie 129 genu PRNP [9]. Osoby z układem homozygotycznym (metionina-metionina) stanowią jedynie ok. 30% w populacji generalnej, ale już 70% wśród chorych na CJD, a 100% wśród osób z potwierdzonym wariantem CJD. Istnieje możliwość, że są również inne, nieznane dotychczas czynniki genetyczne, od których zależy podatność na choroby prionowe.

W Polsce, w Instytucie Psychiatrii i Neurologii rozpoznano i potwierdzono obecność encefalopatii gąbczastej u ponad 80-ciu osób. Niemal wszystkie rozpoznania dotyczą przypadków sporadycznych CJD (sCJD), u czterech osób choroba miała charakter rodzinny (w tym dwa przypadki zespołu Gerstmann-Strauslerra-Scheinkera).

W trzech przypadkach zaistniało podejrzenie vCJD. W dwu z nich obraz MR głowy sugerował „zespół poduszki”, w trzecim – występowały zaburzenia psychotyczne oraz mioklonie. U wszystkich tych osób badanie neuropatologiczne pozwoliło na wykluczenie tego podejrzenia (przyżyciowo w dwu przypadkach otrzymano również negatywny wynik badania migdałka na obecność PrP).

W Japonii wykryto jeden przypadek vCJD, który zasługuje na szczególną uwagę, ponieważ udało się w nim ustalić z dużym prawdopodobieństwem okres inkubacji na ok. 10 lat, a ponadto wykazano w czasie 3,5 rocznej obserwacji przechodzenie w badaniu MR głowy obrazu typowego dla vCJD w zmiany charakterystyczne dla sCJD, co może podważać stwierdzaną przedtem wysoką swoistość tego badania dla różnych form CJD.

Istotne znaczenie dla prognozowania epidemiologii vCJD ma wspomniane wyżej utrzymywanie się prionów tej choroby w układzie chłonnym. Istnieją dane wskazujące na to, że ich obecność w guzkach limfatycznych może znacznie wyprzedzać początek choroby. Stwarza to groźbę przenoszenia infekcji prionowej w czasie różnych zabiegów, a przede wszystkim przy okazji transfuzji krwi. Ażeby sprawdzić tę ostatnią możliwość zebrano w W. Brytanii dane dotyczące wszystkich tych dawców krwi, u których w późniejszym okresie rozwinął się wariant CJD [6]. Wykryto takich osób 15. Ustalono też, że ich krew trafiła do 48-miu biorców. Wśród tych biorców, do których udało się dotrzeć (część tych osób już nie żyła), znaleziono jednego, który zachorował na vCJD 6.5 roku po otrzymaniu krwi [6]. Początkowo przyjęto, że może to być jedynie zbieg okoliczności w kraju, w którym przypadki vCJD pojawiają się rok rocznie. Jednak po dłuższej obserwacji wykryto w tej grupie biorców dwie dalsze osoby z białkiem prionowym w układzie chłonnym (w tym jednego biorcę bez objawów vCJD, zmarłego z innych

powodów) [7]. W tej sytuacji należy już przyjąć, że dawcy krwi mogą być przenosicielami infekcji prionowej typu BSE – vCJD.

Konsekwencją tych obserwacji są badania mające ustalić możliwość nosicielstwa białka prionowego w układzie chłonnym, wśród osób populacji generalnej. Przeprowadzono je w W. Brytanii w ubiegłym roku na kilkanaście tysięcy osób liczącej grupie [5]. Badano migdałki i wyrostki robaczkowe usunięte z różnych przyczyn, u osób nie podejrzewanych o chorobę prionową. W wyniku bardzo precyzyjnego, przeprowadzonego kilkoma metodami, badania usuniętych 12 674 narządów limfatycznych wykryto obecność białka prionowego u trzech osób, w wyrostkach robaczkowych. Na podstawie uzyskanych danych łatwo ustalono, że w populacji generalnej można liczyć się z nosicielstwem białka prionowego u ponad 250-ciu osób na 1 milion ludności. Rezultat ten jest zaskakujący, choć nie jest on jednoznaczny z groźbą zachorowań tak dużej liczby osób. Zmusza on jednak do wzięcia pod uwagę możliwości przenoszenia się zakażenia prionowego wraz limfocytami krwi obwodowej, pobieranej u pozornie zupełnie zdrowych osób.

Sami nosiciele mogą nie zachorować nigdy, bądź po bardzo długim okresie inkubacji. Na tę drugą możliwość wskazują niektóre badania nad scrapie, w których pasaż PrP przez układ chłonny łączy się z długim okresem utajenia.

Konieczne wydaje się wprowadzenie szeregu zaleceń dotyczących krwiodawstwa, ażeby osoby, które mogą być nosicielami, wyłączyć z możliwości oddawania krwi.

Wśród zarządzeń w tej sprawie, wydanych przez władze sanitarne w W. Brytanii i w USA, najważniej-

sze wydaje się wskazanie do opracowania i stałego stosowania szybkiego testu służącego do sprawdzania każdej pobranej krwi na obecność najmniejszych nawet śladów białek prionowych [8].

## Piśmiennictwo

1. Beisel C., Morens D.: Variant Creutzfeldt-Jakob Disease and the Acquired and Transmissible Spongiform Encephalopathies. *Emerg. Infect.* **38**, 697–704 (2004)
2. Body D., Glasson J.: BSE and the particular British problem of variant CJD. *Clin. Risk*, **11**, 14–24 (2005)
3. Collie D.A., Sellar R., Zeidler M., Colchester A.C., Knight R., Will R.G.: MRI of Creutzfeldt-Jakob disease: Imaging Features and Recommended MRI Protocol. *Clin. Radiol.* **56**, 726–739 (2001)
4. Hill A.F., Butterworth R., Joiner S.: Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet*, **353**, 183–188 (1999)
5. Hilton D.A., Ghani A.C., Conyers L., Edwards P., McCardle L., Ritchie D., Penney M., Hegazy D., Ironside J.W.: Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J. Pathol.* **203**, 733–739 (2004)
6. Llewelyn C.A., Hewitt P.E., Knight R.S., Amar K., Consens S., Mackenzie J., Will R.G.: Possible transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Lancet*, **363**, 417–421 (2004)
7. Peden A.H., Head M.W., Ritchie D.L., Bell J.E., Ironside J.W.: Preclinical vCJD after blood transfusion in a PRNP codon 129 heterozygous patient. *Lancet*, **364**, 527–529 (2004)
8. Peden A.H., Ritchie D.L., Ironside J.W.: Risks of transmission of variant Creutzfeldt-Jakob disease by blood transfusion. *Folia Neuropath.* **43**, 271–278 (2005)
9. Wadsworth J.D., Collinge J. i wsp.: Human prion protein with valine 129 prevents expression of variant CJD phenotype. *Science*, **306**, 1793–1796 (2004)
10. Zeidler M., Ironside J.W.: The new variant of Creutzfeldt-Jakob disease. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* **19**, 98–120 (2000)



**Bernard Wasinski<sup>1</sup>, Wojciech Iwaniak<sup>2</sup>, Zygmunt Pejsak<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Zakład Chorób Świń i <sup>2</sup>Zakład Mikrobiologii, Państwowy Instytut Weterynaryjny-Państwowy Instytut Badawczy,  
24-100 Puławy, Al. Partyzantów 57, e-mail: wasinski@piwet.pulawy.pl

1. Wstęp. 2. Badania prowadzone w PIWet-PIB. 3. Podsumowanie

### ***Leptospira* spp. as a potential pathogen of man**

**Abstract:** Leptospirosis is worldwide zoonotic disease caused by pathogenic serovars of *Leptospira* spp. Between species of domestic animals swine and cattle are significant reservoir and one of the most important source of *Leptospira* infections for man. Serological screenings are one of methods allowing spread of the infection in swine and cattle population control and risk degree of *Leptospira* transmission from animals to man estimate. The aim of this investigation was to analyze the prevalence of antibodies against *Leptospira* spp. in swine and cattle population in Poland. Presented data were collected in the years 2002–2005. Totally 24464 swine serum samples and 2622 sera from cattle were examined by the use of microscopic agglutination test (MAT) during the study. The samples came from pig farms and cattle herds located in all 16 provinces of Poland. In following years 1.07% to 2.51% of swine sera and 0 to 3.75% serum sample from cattle were positive. In swine sera antibodies reacting with serovars from serogroups Pomona, Sejroe, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Canicola and Grippityphosa were found. Positive sera from cattle reacted with serovars from serogroups Grippityphosa, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Celledoni and Semarang. About 60% of swine and 80% of cattle positive serum samples presented low titers ( $\leq 1:200$ ) of antibodies. Seroreagents were found in pig farm located in 15 provinces. Positive results were found in following years 0 to 7 of cattle herds. Clinical symptom specific for leptospirosis were noted in low number of seroreagents. The results of the study seems indicate, that *Leptospira* infections in swine and cattle population in Poland, by their spread and in majority cases chronic form can be potentially underestimated factor in determination risk degree of *Leptospira* transmission from animals to man.

1. Introduction. 2. Investigations in NVRI. 3. Summary

---

**Słowa kluczowe:** zoonozy, leptospiroza, *leptospira*

**Key words:** zoonosis, leptospirosis, *leptospira*

---

## **1. Wstęp**

Leptospiroza to spotykana na całym świecie zakaźna choroba zwierząt i człowieka. Wywołują ją krętki z rodzaju *Leptospira* [1, 4, 7, 13, 19]. Do przeniesienia zakażeń leptospirami z człowieka na człowieka dochodzi sporadycznie. Głównym rezerwuarem zarazka i źródłem zakażenia dla człowieka w strefach klimatu umiarkowanego są zwierzęta. Zarazek utrzymuje się przede wszystkim w nerkach i wydalany jest gł. z moczem [1, 7, 13, 17]. W zależności od gatunku zwierzęcia i serowaru zakażającego spotyka się różne objawy choroby. Mogą być nimi żółtaczką, krwimocz, poronienia, zaburzenia układu pokarmowego, objawy ze strony układu nerwowego i in. Ludzie zakażają się m.in. przez kontakt z moczem zakażonych osobników, poronionymi płodami, padłymi zwierzętami, podczas udoju, przy rozbiorze tusz zwierząt zakażonych czy też pośrednio np. przez zanieczyszczoną odchodami zakażonych zwierząt wodę czy glebę [5, 7, 8]. W ostatnich latach w związku z dynamicznym rozwojem ba-

dań nad możliwościami wykorzystania tkanek zwierząt szczególnie świń w transplantologii, zwraca się również uwagę na potencjalne niebezpieczeństwo przeniesienia zakażeń m.in. leptospirami wraz z przeszczepianymi tkankami [2].

Choroba człowieka może przebiegać z objawami posocznicowymi, bólami mięśni, żółtaczką. Stwierdza się również zapalenie opon mózgowych, stany zapalne wątroby, śledziony, zaburzenia nerek, poronienia. Niekiedy zakażenia leptospirami mogą przebiegać wśród objawów łagodniejszych od opisanych. Część przypadków kończy się zejściami śmiertelnymi [14]. Konsekwencją przebytych zakażeń jest nierzadko nosicielstwo.

Na zakażenia leptospirami wrażliwe są ssaki udomowione i wiele gatunków dziko żyjących. Zasadniczym rezerwuarem omawianych drobnoustrojów wśród gatunków dziko żyjących są gryzonie. Spośród gatunków udomowionych stosunkowo często nosicielstwo i siewstwo stwierdza się u świń, bydła i psów [7, 8]. Spotykane często u trzody chlewnej należący do gatunku *Leptospira interrogans* serowar Pomona i należący do *L. borgpetersenii* serowar Tarassovi mogą wywoływać u ludzi tzw. chorobę pasterzy świń (*meningitis*

*porcinarii*). Z kolei spośród częściej wykrywanych serowarów u bydła, *Icterohaemorrhagiae* jest czynnikiem etiologicznym choroby Weila a *Grippytyphosa* wywołuje u ludzi tzw. gorączkę błotną [7, 19].

Grupami zawodowymi szczególnie narażonymi na zakażenia leptospirami są pracownicy obsługi zwierząt, lekarze weterynarii, zootechnicy, pracownicy zakładów mięsnych zatrudnieni przy rozbiorze tusz ale również np. osoby zatrudnione przy pracach w kanalizacji miejskiej, przy melioracji, w górnictwie i in. [6, 7, 10, 19].

Rozpoznanie leptospirozy u zwierząt w warunkach chowu wielkostadnego (fermy trzody chlewnej, stada bydła) może sprawiać niemałe trudności. Omawiana choroba u świń i bydła rzadko przebiega w postaci ostrej. W wielu wypadkach jedynym zauważalnym jej objawem bywają poronienia. Nosicielstwo i siewstwo nerkowe może trwać wiele miesięcy a niekiedy latami. Wymienione aspekty stwarzają trudności w określeniu stopnia rozprzestrzenienia omawianych zakażeń w poszczególnych stadach czy regionach a z drugiej strony zwiększają zagrożenie przeniesienia zakażeń leptospirami ze zwierząt na ludzi. Jednym z działań ułatwiających kontrolowanie wspomnianych zagrożeń oraz aktualizację danych odnośnie sytuacji epizootycznej są prowadzone w stadach trzody chlewnej i bydła serologiczne badania przeglądowe w kierunku zakażeń drobnoustrojami z rodzaju *Leptospira*.

W laboratoriach Państwowego Instytutu Weterynaryjnego-Państwowego Instytutu Badawczego (PIWet-PIB) corocznie badanych jest w kierunku leptospirozy kilka tysięcy próbek surowic świń i około tysiąca próbek surowic bydła. Materiał ten pochodzi z ferm rozlokowanych na terenie całej Polski. Uzyskane w latach 2002–2005 wyniki wspomnianych badań dostarczają danych na temat rozprzestrzenienia zakażeń leptospirami w populacji świń i bydła oraz związanych z tym zagrożeń ludzi.

## 2. Badania prowadzone w PIWet-PIB

W okresie czterech lat przebadano 24464 próbki surowic świń i 2622 próbki surowic bydła. Dane dotyczące liczby próbek badanych w poszczególnych latach zawarto w tabelach (Tab. I i Tab. IV). W żadnej z ferm trzody chlewnej ani żadnym stadzie bydła, z których pochodziły próbki nie prowadzono szczepień przeciwko leptospirozie.

Badania serologiczne prowadzono przy użyciu odczynu aglutynacji mikroskopowej (OAM) z wykorzystaniem antygenów żywych [4, 9]. Jako antygeny w badaniach przeglądowych próbek surowic świń stosowano hodowle należących do gatunku *Leptospira interrogans* serowarów *Icterohaemorrhagiae* (szczep RGA), *Pomona* (szczep *Pomona*), *Canicola* (szczep *Hond*

*Utrecht IV*), należących do *L. borgpetersenii* serowarów *Sejroe* (szczep M 84) i *Tarassovi* (szczep *Perpelicin*) oraz należącego do *L. kirschneri* serowaru *Grippytyphosa* (szczep Moskwa V).

W badaniach surowic bydła oprócz wymienionych wyżej serowarów wykorzystywano należące do *L. interrogans* serowary *Australis* (szczep *Ballico*), *Hebdomadis* (szczep *Hebdomadis*), *Zanoni* (szczep *Zanoni*), *Autumnalis* (szczep *Akiyami A*), *Bataviae* (szczep *Van Tienen*), *Hardjo* (szczep *Hardjoprajitno*), należące do *L. borgpetersenii* serowary *Ballum* (szczep *Mus 127*) i *Poi* (szczep *Poi*), należący do *L. kirschneri* serowar *Cynopteri* (szczep 3522 C) oraz należący do *L. weilii* serowar *Celledoni* (szczep *Celledoni*).

Hodowlę szczepów prowadzono w warunkach tlenowych na podłożu EMJH (prod. Difco) w temperaturze 30°C. Do wykonania OAM wykorzystywano hodowle o gęstości  $2 \times 10^8$  leptospir/ml.

W badaniach przeglądowych stosowano rozcieńczenie surowicy 1 : 100. W przypadku stwierdzenia reakcji dodatniej badanej surowicy, z którymś z serowarów leptospir, wykonywano jej rozcieńczenia w postępie arytmetycznym i określano miano przeciwciał reagujących z tym serowarem. Brak reakcji w mianie 100 interpretowany był jako wynik ujemny. Stwierdzenie reakcji w mianie 100 lub wyższym traktowano się jako wynik dodatni. Miana wysokości 100 i 200 uważa się za mogące świadczyć o wczesnych, aktualnych lub dawniej przebytych zakażeniach. Miana 400 i wyższe traktowane są jako wskazujące na czynną leptospirozę.

Odczyn aglutynacji mikroskopowej jest metodą o swoistości serogrupowej. Stwierdzenie wyniku dodatniego oznacza zatem, że przyczyną zakażenia może być nie tylko serowar, z którym reagowała dana surowica lecz również inny serowar o zbliżonej budowie antygenowej należący do tej samej grupy serologicznej.

W trakcie badań określano liczbę dodatnich próbek surowic reagujących z poszczególnymi serowarami w różnych mianach. W oparciu o te dane analizowano rozprzestrzenienie zakażeń poszczególnymi serowarami w populacji świń i bydła.

Badania przeprowadzone na materiale pochodzącym od świń wykazały, że odsetek próbek dodatnich stwierdzany w poszczególnych latach wahał się od 1,07% w roku 2005 do 2,51% w roku 2002 (Tab. I). W trakcie czteroletnich badań obecność seoreagentów wykryto na terenie 15 województw. Jedynie w przypadku województwa świętokrzyskiego wszystkie otrzymane do badań próbki surowic wykazały wyniki ujemne. Fakt ten może wynikać z niezbyt wysokiej liczby próbek pozyskanych z tego województwa. Badania przeglądowe prowadzone w poprzednich latach [18] wykazywały występowanie chlewni, w których wykrywano seoreagentów również na terenie wspomnianego województwa.

Tabela I  
Wyniki badania próbek surowic świń w kierunku *Leptospira* spp. w latach 2002–2005

Rok	Liczba próbek badanych	Liczba województw badanych	Liczba / % próbek dodatnich	Liczba / % województw z wynikami dodatnimi
2002	8082	16	203 / 2,51	10 / 62,50
2003	6489	16	123 / 1,89	10 / 62,50
2004	3187	12	56 / 1,75	4 / 25,00
2005	6706	15	72 / 1,07	11 / 68,75

Tabela II  
Porównanie liczby i odsetka surowic świń reagujących z poszczególnymi serowarami leptospir w kolejnych latach

Rok	Liczba / % próbek dodatnich reagujących z serowarami					
	Pomona	Sejroe	Tarassovi	Icterohaemorrhagiae	Grippotyphosa	Canicola
2002	114 / 56,16	39 / 19,21	23 / 11,33	21 / 10,34	2 / 0,99	4 / 1,97
2003	56 / 45,52	46 / 37,40	13 / 10,57	2 / 1,63	6 / 4,88	
2004	1 / 1,80	37 / 66,07	5 / 8,93	13 / 23,20		
2005	33 / 45,83	31 / 43	3 / 4,17	5 / 6,94		

Wśród pochodzących od świń próbek dodatnich najliczniejszą grupę (oprócz wyników z roku 2004) stanowiły surowice reagujące z serowarem Pomona (Tab. II). Stwierdzane tam miana wahały się od 100 do 12 600. Drugą pod względem liczebności grupą próbek były surowice reagujące z serowarem Sejroe. Niższą liczebność wykazywały surowice reagujące z serowarami Tarassovi i Icterohaemorrhagiae przy czym w pierwszych dwóch latach badań częściej stwierdzano próbki reagujące z sv. Tarassovi a w kolejnych dwóch – surowice reagujące z sv. Icterohaemorrhagiae. Odsetek żadnej z tych dwóch grup surowic w puli próbek dodatnich nie przekraczał w poszczególnych latach 25%.

Próbki surowic świń wykazujące obecność przeciwciał reagujących z serowarami Pomona, Sejroe, Tarassovi i Icterohaemorrhagiae wykrywano w każdym roku badań. Surowice reagujące z serowarem Grippotyphosa stwierdzono w latach 2002 i 2003 a próbki reagujące z serowarem Canicola – tylko w 2002 r. Odsetek żadnej z tych dwóch grup próbek nie przekraczał wśród dodatnich surowic świń 5%.

Fermy świń, w których stwierdzono obecność zwierząt wykazujących reakcje serologiczne z sv. Pomona wykryto w trakcie całego okresu badań na terenie 12 województw (Tab. III). Seroreagentów wykazujących reakcje z sv. Sejroe wykryto w fermach na terenie 11 województw, reagujących z sv. Icterohaemorrhagiae

Tabela III  
Usytuowanie ferm trzody chlewnej, w których stwierdzono seroreagentów dla leptospir

Województwa, w których usytuowane były ферmy świń gdzie wykryto seroreagentów swoistych dla serowarów z serogrup:					
Pomona	Sejroe	Icterohaemorrhagiae	Tarassovi	Grippotyphosa	Canicola
Dolnośląskie Kujawsko-pomorskie Lubuskie Małopolskie Mazowieckie Opolskie Podkarpackie Podlaskie Pomorskie Śląskie Warmińsko-mazurskie Zachodniopomorskie	Dolnośląskie Kujawsko-pomorskie Lubelskie Lubuskie Łódzkie Mazowieckie Podkarpackie Pomorskie Śląskie Warmińsko-mazurskie Wielkopolskie	Dolnośląskie Kujawsko-pomorskie Opolskie Podkarpackie Pomorskie Zachodniopomorskie	Dolnośląskie Kujawsko-pomorskie Wielkopolskie Zachodniopomorskie	Dolnośląskie Małopolskie Mazowieckie Warmińsko-mazurskie	Zachodniopomorskie

Tabela IV  
Wyniki badania próbek surowic bydła w kierunku *Leptospira* spp. w latach 2002–2005

Rok	Liczba próbek badanych	Liczba stad badanych	Liczba / % próbek dodatnich	Liczba / % stad z wynikami dodatnimi
2002	825	31	19 / 2,30	7 / 22,58
2003	956	42	2 / 0,20	1 / 2,38
2004	521	42	0 / 0	0 / 0
2005	320	22	12 / 3,75	2 / 9,09

Tabela V  
Porównanie liczby próbek surowic krów swoistych dla serowarów z poszczególnych serogrup w kolejnych latach badań

Rok	Liczba próbek reagujących z serowarami serogrup:					
	Icterohaemorrhagiae	Grippotyphosa	Javanica	Celledoni	Semaranga	Razem
2002	–	12	4	2	1	<b>19</b>
2003	–	2	–	–	–	<b>2</b>
2004	–	–	–	–	–	–
2005	2	10	–	–	–	<b>12</b>
Razem	2	24	4	2	1	<b>33</b>

- w 6 województwach, z sv. Tarassovi i Grippotyphosa
- w 4 województwach a reagujących z sv. Canicola
- w 1 województwie.

Badania dotyczące bydła obejmowały rocznie od 22 do 42 stad z terenu całego kraju (Tab. IV). Największą liczbę stad, w których stwierdzono obecność seroreagentów odnotowano w roku 2002. Wyników dodatnich nie stwierdzono natomiast w żadnej z próbek pochodzących ze stad badanych w roku 2004.

Największa liczba spośród dodatnich próbek surowic krów wykazywała obecność przeciwciał reagujących z serowarem Grippotyphosa (Tab. V). Miana przeciwciał surowic reagujących z tym serowarem wahały się od 100 do 800. Surowice bydła, które w OAM reagowały z serowarem Grippotyphosa stanowiły ponad 70% próbek dodatnich pobranych w ciągu 4 lat badań. Próbki reagujące z serowarami należącymi do serogrup Javanica, Icterohaemorrhagiae, Celledoni i Semaranga wykrywane były nie we wszystkich latach a ich liczba w jednym roku nie przekroczyła 4. Miana przeciwciał surowic swoistych dla serogrupy Javanica wahały się od 100 do 400 zaś w przypadku reagentów swoistych dla serogrup Celledoni i Semaranga nie przekroczyły 200.

Dane dotyczące usytuowania ferm trzody chlewnej, w których wykryto seroreagentów świadczą o rozprzestrzenieniu w krajowej populacji świń zakażeń wywołanych szczególnie przez serowary serogrup Pomona i Sejroe. Wspomniane dane wykazują też w takich województwach jak dolnośląskie czy kujawsko-pomorskie zróżnicowanie w zakresie serogrup, do których należą serowary leptospir wywołujące zakażenia w zlokalizowanych tam fermach. Częściowy wpływ na takie

wyniki mogły mieć liczba pozyskanych próbek i sposób ich pobierania. Z obu wspomnianych województw otrzymywano znaczne liczby próbek, które pobierane były w wielu fermach. Należy jednak również zauważyć, że np. w woj. wielkopolskim mimo otrzymywania podobnie licznych i pozyskiwanych z wielu ferm surowic wykryto seroreagentów wykazujących przeciwciała swoiste tylko dla dwóch serogrup (Sejroe i Tarassovi). Interesującym jest również fakt, że mimo znacznej liczby znajdujących się w tym województwie dużych ferm nie stwierdzono tam, podobnie jak w latach poprzednich, występowania zwierząt wykazujących reakcje serologiczne z typowymi dla świń serowarami serogrupy Pomona.

Wysokie miana przeciwciał ( $\geq 400$ ) stwierdzano najczęściej w grupach surowic swoistych dla serogrup Pomona i Sejroe. Odsetek takich próbek wahał się tam w zależności od roku na poziomie ok. 40–50%, przy czym wyższe miana odnotowywano wśród surowic swoistych dla serogrupy Pomona. W przypadku surowic swoistych dla pozostałych serogrup wyraźnie przeважаły próbki o mianach niskich.

Należy zaznaczyć, że w serodatnich w fermach świń rzadko odnotowywano objawy (poza poronieniami) mogące wskazywać na zakażenia leptospirami. W przypadku ferm, w których wykazywano obecność seroreagentów swoistych dla serogrupy Sejroe nawet poronienia spotykano sporadycznie. Sytuacje takie mogą niekiedy sprzyjać zaniedbaniom w zakresie utrzymania rygorów higienicznych co zwiększa ryzyko przeniesienia zakażeń ze zwierząt na ludzi. Warto zaznaczyć, że stwierdzane w latach 50-tych i 70-tych we wschodnich rejonach Polski masowe zakażenia ludzi leptospi-

rami wywoływane były m.in. przez serowary z serogrupy Sejroe [19]. Przeprowadzone w ostatnich latach na terenie woj. kujawsko-pomorskiego serologiczne badania przeglądowe dzików i owiec wykazały również u tych gatunków liczne grupy seroreagentów z przeciwciałami swoistymi dla serogrupy Sejroe [11, 12].

Wyniki badań próbek pozyskanych od bydła (choć na mniej liczny materiał) wydają się potwierdzać spostrzeżenia sformułowane w oparciu o rezultaty badań surowic świń. W grupie próbek dodatnich wysokie miano stwierdzono głównie wśród najliczniej reprezentowanych surowic swoistych dla serogrupy Grippotyphosa. Próbkami o mianach niskich stanowiły 80% wszystkich dodatnich surowic pozyskanych od bydła. Objawy kliniczne mogące wskazywać na zakażenia wywołane przez leptospiry tylko sporadycznie były dostrzegalne u zwierząt wykazujących reakcje serologiczne.

Przypadki leptospirozy ludzi w Polsce stwierdzane są niezbyt często [3, 14]. Zgodnie z danymi Państwowego Zakładu Higieny w latach 1997–2005 odnotowywano rocznie od 3 do 21 potwierdzonych przypadków tej choroby [16]. Część z tych przypadków wiązana jest zakażeniami przekazywanymi za pośrednictwem zanieczyszczonej omawianymi drobnoustrojami wody [14]. Na przykład największa we wspomnianym zestawieniu liczba 21 przypadków leptospirozy ludzi przypadła na rok 1997 kiedy w dorzeczu Odry miały miejsce wielkie powodzie. Należy jednak pamiętać, że w warunkach klimatu umiarkowanego leptospiry mimo niemałych zdolności adaptacyjnych znajdują możliwość utrzymania się przez dłuższy czas przede wszystkim w organizmach zakażonych ssaków.

Przytoczone w niniejszej pracy wyniki badań serologicznych wskazują, że występujące w krajowej populacji świń oraz bydła zakażenia drobnoustrojami z rodzaju *Leptospira* ze względu na rozprzestrzenienie i w przeważającej części przypadków chroniczny przebieg mogą stanowić niedoceniane zagrożenie przeniesienia omawianych infekcji na człowieka. Na dokładniejsze rozpoznanie skali tego zagrożenia mogłyby pozwolić np. przeglądowe badania serologiczne ludzi z grup o podwyższonym ryzyku zakażenia leptospirami (pracownicy obsługi zwierząt, pracownicy zakładów mięsnych itp.). Z kolei cennym uzupełnieniem w precyzyjnym i szybkim rozpoznaniu sytuacji epizootycznej z zakresu leptospirozy w stadach bydła i trzody chlewnej (np. przy potwierdzaniu nosicielstwa) mogłoby być szersze wykorzystanie technik biologii molekularnej.

### 3. Podsumowanie

W pracy przedstawiono wyniki prowadzonych w latach 2002–2005 badań dotyczących rozprzestrzenienia zakażeń drobnoustrojami z rodzaju *Leptospira*

w krajowej populacji świń i bydła oraz związanego z tym zagrożenia zakażeniem ludzi. Stopień rozprzestrzenienia wymienionych zakażeń określano w oparciu o wyniki przeglądowych badań serologicznych, obejmujących zlokalizowane na terenie całego kraju fermy trzody chlewnej i stada bydła. Przebadano łącznie 24 464 próbek surowic świń i 2622 surowic krów. W kolejnych latach badań wyniki dodatkowo wykazywały od 1,07% do 2,51% próbek surowic świń i od 0 do 3,75% badanych surowic bydła. Fermi świń, w których stwierdzono występowanie seroreagentów zlokalizowane były na terenie 15 województw. Liczba stad bydła gdzie wykryto seroreagentów wahała się w kolejnych latach od 0 do 7. W dodatnich próbkach surowic świń wykazano obecność przeciwciał reagujących z serowarami z serogrup: Pomona, Sejroe, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Canicola i Grippotyphosa. Dodatkowo surowice bydła reagowały z serowarami serogrup Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Celledoni i Semarang. Przeważająca liczba dodatnich próbek bydła i świń wykazywała niskie miano (100–200) przeciwciał. Objawy kliniczne mogące wskazywać na zakażenia wywołane przez leptospiry odnotowywane były u nielicznych seroreagentów wśród świń i sporadycznie wśród bydła. Uzyskane wyniki badań serologicznych wskazują, że występujące w krajowej populacji świń i bydła zakażenia drobnoustrojami z rodzaju *Leptospira*, ze względu na swoje rozprzestrzenienie i w większości chroniczny przebieg, mogą wciąż stanowić niedoceniane zagrożenie przeniesienia tych infekcji na człowieka.

### Piśmiennictwo

1. Bharti A.R., Vinetz J.M. i wsp.: Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet*, **3**, 757–771 (2003)
2. Bjoersdorff A., Korsgren O., Feinstain R., Andersson A., Tollemar J., Malborg A.S., Ehrnst A., Groth C.G.: Microbiological characterization of porcine fetal islet-like cell cultures for intended xenografting. *Xenotransplantation*, **2**, 26–31 (1995)
3. Bociąga-Jasik M., Garlicki M., Kluba-Wojewoda U.: Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych przebiegające z zespołem ostrej niewydolności oddechowej u dorosłych – opis przypadku. *Przegl. Lek.* **7–8**, 434–435 (2000)
4. Ellis W.A.: Leptospirosis. W: OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines., Office International des Epizooties, Paris 2001, s. 265
5. Ellis W.A.: Leptospirosis. (w) Diseases of Swine. ed.: Straw B., D’Allaire S., Mengeling W.L., Taylor D.J.; Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa USA, 2006, s. 691.
6. Faine S.: Guidelines for control of leptospirosis. WHO Offset Publ. no. 67, Geneva 1982, s. 54
7. Faine S.: Leptosira and Leptospirosis. CRC Press, Boca Raton 1994, s. 243.
8. Gliński Z., Buczek J.: Kompendium chorób odzwierzęcych. Wyd. Akademii Rolniczej w Lublinie, Lublin 1999

9. Instrukcja nr 33/2003 Głównego Lekarza Weterynarii z dnia 25 czerwca 2003 r. (NrGIWzVII.420/lab-10/2003) dotycząca przeprowadzania badań laboratoryjnych w kierunku rozpoznawania zakażeń wywołanych przez drobnoustroje z rodzaju *Leptospira* przy użyciu odczynu aglutynacji mikroskopowej.
10. Kingscote B.F.: Leptospirosis: an occupational hazard to veterinarians. *Canad. Vet. J.* **27**, 78–81 (1986)
11. Krawczyk M.: Leptospiroza owiec na podstawie badań serologicznych. *Medycyna Wet.* **56**, 397–399 (1999)
12. Krawczyk M.: Badania serologiczne dzików w kierunku leptospirozy. *Medycyna Wet.* **56**, 440–443 (2000)
13. Levett P.N. Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* **14**, 296–326 (2001)
14. Niścigorska J., Morańska I., Kruszewski T.: Leptospirosis in West Pomeranian District in Poland. *Adv. Agric. Sci.* **9**, 69–72 (2004)
15. Pejsak Z.: Choroby świń. Polskie Wyd. Rolnicze, Poznań 2002, s. 155
16. PZH Webside 15 marca 2006 roku (online): Meldunki o zachorowaniach na choroby zakaźne, zakażeniach i zatruciach w Polsce (dwutygodniowe, kwartalne, półroczne, roczne), [http://www.pzh.gov.pl/epimed/index\\_p.html](http://www.pzh.gov.pl/epimed/index_p.html) (22 Marca 2006 data ostatniego sprawdzenia adresu)
17. Vinetz J.M.: Leptospirosis, *Curr. Opin. Infect. Dis.* **14**, 527–538 (2001)
18. Wasieński B.: Aktualna sytuacja w zakresie leptospirozy świń w Polsce. (w) Postęp w ochronie zdrowia i biotechnice rozrodu trzody chlewnej, red. Z. Pejsak, Wyd. PIWet, Puławy 2003, s. 107
19. Zwierz J.: Leptospirozy. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1964, s. 118

## Spis treści

### SYMPOZJUM NAUKOWE. „Zoonozy – aktualne zagrożenia”

S. Tylewska-Wierzbanowska – Interakcja: człowiek-zwierzęta .....	7
E. K. Jagusztyn-Krynicka, A. Wyszyńska, A. M. Łasica – Oddziaływanie <i>Campylobacter jejuni</i> z komórkami eukariotycznymi – komensalizm a chorobotwórczość .....	11
T. Płusa – Współczesne wirusowe wziewne zakażenia układu oddechowego .....	19
T. Chmielewski – Stare i nowe riketsjozy .....	23
M. Binek, B. Błaszczak – Mechanizmy zakażenia pałeczkami <i>Salmonella</i> .....	27
E. Samorek-Salamonowicz, T. Wijaszka, W. Kozdruń – Zoonotyczne aspekty ptasiej grypy .....	39
J. Kulczycki – Problem zagrożenia wariantem choroby Creutzfeldta-Jakoba .....	51
B. Wasiński, W. Iwaniak, Z. Pejsak – <i>Leptospira</i> spp. jako potencjalny patogen człowieka .....	55

## Contents

### SYMPOSIUM. “Zoonoses – actual risk”

S. Tylewska-Wierzbanowska – Human-animal interaction .....	7
E. K. Jagusztyn-Krynicka, A. Wyszyńska, A. M. Łasica – Interaction between <i>Campylobacter jejuni</i> and eukaryotic cells – commensalism vs. pathogenicity .....	11
T. Płusa – Contemporary viral inhaled infections of the respiratory tract .....	19
T. Chmielewski – Old and new rickettsioses .....	23
M. Binek, B. Błaszczak – Mechanisms of <i>Salmonella</i> infection .....	27
E. Samorek-Salamonowicz, T. Wijaszka, W. Kozdruń – Zoonotic aspects of Avian Influenza .....	39
J. Kulczycki – Creutzfeldt-Jakob disease risk problem .....	51
B. Wasiński, W. Iwaniak, Z. Pejsak – <i>Leptospira</i> spp. as a potential pathogen of man .....	55

## INSTRUKCJA DLA AUTORÓW PRAC PUBLIKOWANYCH W SUPLEMENTACH DO KWARTALNIKA POSTĘPY MIKROBIOLOGII

W celu ułatwienia publikowania w jednym miejscu artykułów o podobnej problematyce, *Postępy Mikrobiologii* wydawać będą w formie suplementów, następujące prace naukowe:

1. Referaty z sesji plenarnych Zjazdów naukowych, Konferencji naukowych oraz Sympozjów organizowanych staraniem Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów oraz Komitetu Mikrobiologii Polskiej Akademii Nauk. Manuskrypt pojedynczego referatu nie powinien przekraczać 25-ciu stron i powinien być przygotowany wg Informacji dla Autorów *Postępów Mikrobiologii*. Całość materiałów przygotowanych do jednego suplementu nie może przekraczać 150 stron maszynopisu.
2. Streszczenia przyjętych przez organizatorów referatów oraz doniesień prezentowanych na ww. Zjazdach naukowych, Konferencjach oraz Sympozjach. Streszczenie nie powinno przekraczać jednej strony maszynopisu i kończyć się nie więcej jak trzema pozycjami cytowanego piśmiennictwa.

W suplementcie nie będą publikowane oryginalne prace doświadczalne prezentowane na ww. Zjazdach naukowych. Prace te po odpowiednim przygotowaniu, zgodnie z instrukcją dla autorów, można przysyłać do Redakcji *Polish Journal of Microbiology (Acta Microbiologica Polonica)* lub innego czasopisma naukowego.

Autorzy lub zamawiający suplement ponoszą pełny koszt jego opracowania oraz wydania. Możliwy jest druk czterech suplementów rocznie. Ponieważ materiały przeznaczone do suplementu nie są opracowywane oraz nie podlegają ocenie Zespołu Redakcyjnego *Postępów Mikrobiologii*, zamawiający suplement, tj. osoba upoważniona przez Zarząd Główny Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów lub Komitet Mikrobiologii PAN, bierze całkowitą odpowiedzialność za redakcję oraz wartość merytoryczną suplementu. Wydanie suplementu powinno być poprzedzone jego akceptacją przez Zespół Redakcyjny *Postępów Mikrobiologii*.

---

**Redakcja nie ponosi odpowiedzialności za treść reklam i ogłoszeń**

---

### ***Oferta Reklamy***

*Postępy Mikrobiologii* udostępnią w każdym numerze kilka stron (łącznie z wewnętrznymi stronami okładek) **reklamie**.

Pismo nasze dociera co kwartał do kilku tysięcy odbiorców. Są wśród nich specjaliści różnych dziedzin mikrobiologii, pracujący jako nauczyciele Wyższych Uczelni Szkół Średnich, pracownicy naukowcy Instytutów Badawczych, biotechnolodzy oraz lekarze. Dużą grupę naszego pisma stanowią studenci.

**Cena ogłoszenia czarno-białego wewnątrz numeru wynosi:**

**1/2 strony 250,- zł**

**cała strona 500,- zł**

**Proponujemy również ogłoszenia kolorowe – cena do uzgodnienia.**

Teksty opracowanych graficznie reklam proszę składać na adres Redakcji *Postępów Mikrobiologii*, 02-007 Warszawa, ul. Oczerki 3, tel. 628 08 22.

---