BOLEZEN GUMBORO

* značilnosti
* pravilno ime bolezni je Gumborska bolezen (uradno Slovensko ime)
* Gumboro je vasica v Ameriki
* odkrili leta 1962 Cosgrove
* povzroča imunosupresijo
* bolezen
* zelo kontagiozna akutna, virusna limficitolitična bolezen perutnine
* obolevajo mlajše živali (3-6 tednov)
* bolezen je razširjena po celem svetu
* imunosupresija: živali bolj dovzetne za sekundarne okužbe, slabši imunski odgovor za cepljenja
* virusi bolezni Gumboro
* Avibimavirusi (Birnaviridae)
* dvovijačna RNA (dsRNA)
* 53-60 nm
* ikozaedrične oblike
* nimajo ovojnice
* zelo odporni: rezistentni na eter in kloroform, pH 12 – inaktivacija, pH – neobčutljiv, termostabilen (60°C – neobčutljivi; večina virusov propade pri 56 °C)
* struktura virusa
* virus nima ovojnice
* kapsida je ikozaedrične oblike
* genom

→ dvojna vijačnica RNA (ds RNA)

→ dva segmenta RNA (A in B)

* segment A kodira sekundarne proteine (VP2 in VP3 – proteina kapside)
* segment B kodira encim RNA polimerazo
* virusni proteini (VP)
* VP1 90-kDa (virusna polimeraza)
* VP2 40-kDa (glavni imunogeni strukturni protein– določajo antigenske determinante)
* VP3 35-kDa (strokturni protein)
* VP4 28-kDa (strokturni protein)
* VP5 164-kDa (nestrukturni protein, povzroča apatozo – tudi VP2 povzroča apoptozo)
* VP1 (z njim se ukvarjajo zadnje čase) in VP2 sta najbolj preizkana virusna proteina
* lastnosti virusov
* dva serotipa virusov:

→ serotip 1:

* patogeni sevi, razlike med njimi v virulentnosti in antigenskimi lastnosti
* razširjen po celem svetu

→ serotip 2:

* izolirani pri puranih, racah, ne povzročajo bolezni pri kokoših
* ne zaščitijo kokoši proti okužbi s serotipom 1
* antigenske lastnosti virusov
* Ag razlike med sevi nastanejo zaradi mutacij v genomu virusa, ki povzročijo spremembo epitopov za vezavo nevtralizacijskih protiteles
* mutacije so prisotne na genu za strukturni protein VP2 – na t.i. »hipervariabilnem delu«

# segment B

segment A

# VP3

# VP4

# VP2

# VP1

* VP2 je spremenjljiv je hipervariabilni del
* variabilni del med Ak 206-350; domneva se ta je to vzrok virulentnosti virusa
* uporaba cepiv → virus se je prilagodil in se spremenil → izbruhne nova virusna Gumboro bolezen leta 1987
* pojav zelo patogene oblike Gumboro bolezni
* konec 1980 in začetek 1990: države Beneluxa, Couholna in Z Evropa, Japonska, Indija, Pakistan, J. Afrika, Izrael
* 1999: J. Amerika, Karibski otoki
* Slovenija 1993 (Murska Sobota – pogini mladih živali; virus se je razširil, vendar samo do Trojan)-1997, 2004-2005
* serotip in patotip GBV
* Apathogenic (serotypez) → no mortality, no bursal lesions
* Pathogenic (serotype 1) s patotipi:

→ mild no mortaly, increasing bursal lesions

→ intermediale

→ intermediale plus

→ classical increasing mortality

→ variant

→ very or hypervirulent

* razširjenost
* zelo patogeni: bolj razširjena
* manj patogeni: manj je klasične GB
* vnos in širjenje bolezni
* bolezen se širi z direktnim ali indirektnim kontaktom in z okuženimi predmeti
* okužba se tako najpogosteje vnese z rejo mehanično, z okuženo opremo, vodo, hrano, človekom, obolelimi živalmi, črevesnimi zajedavci
* GBV je bil dokazan tudi pri podganah in komarjih, ki tako predstavljajo možne prenašalce
* našli so virus tudi pri psu, vendar ni zbolel
* v jatah se pa širi kontaktno
* okuženi piščanci izločajo virus še 2 tedna po preboleli bolezni, virus pa perzistira v objektu še 122 dni, ko je objekt že izpraznjen
* ko pride GB se reja prekine za 0,5 leta
* vertikalni prenos virusa ni dokazan
* klinični potek bolezni, patoanatomske spremembe so odvisne od
* virulence virusa
* starost in pasemski tip živali (lahke pasme so bolj občutljive od težkih pasem – 6-11 teden so jarčke bolj občutljive kot brojlerji)
* imunski status
* patogeneza
* po okužbi se visrus razmnožuje v limfatičnem tkivu prebavil (limfatične celice cekuma duodenuma in jejunoma, makrofagi), primarna viremija
* sekundarna viremija: burza Fabrici (preko makrofagov pride v B.F. in nato v druge limfatične organe) – masivno razmnoževanje, vranica, timus, cekalne tonzile, jetra, kostni mozeg, ledvica
* klinična slika
* inkubacija: 5-7 dni
* klinično nezaznavna
* pogina manj kot 1%
* edem burse Fabricii (limfopenija limfocitov B → ↓ imunski odgovor)
* imunosupresija – slabši odziv na cepljenja
* pogostejše sekundarne infekcije
* zelo patogena oblika GB
* inkubacija: do 24 ur (že v burzi Fabricii)
* visoka obolevnost kljub zaščitnemu cepljenju, z značilnimi kliničnimi znaki apatije, nasršenosti perja, neješčnosti, driska (brojlerski piščanci)
* potek bolezni: kratek 6-7 dni
* pogin: brojlerji 2-9%, jarčke lahkega tipa do 40% (stare 8 tednov v Laškem), SPF piščanci 54,28%
* brojlerji obolevajo pri 35 dnevu
* patoanatomske spremembe:

→ dehidracija

→ petehialne krvavitve v prsni in bederni muskulaturi (ni pravilo, da so krvavitve

petehilane, te se lahko združijo in postanejo bolj masovne)

→ krvavitve po sluznici žlezovnika

→ hipertrofija do atrofija vranice

→ variabilne spremembe na ledvicah

→ enteritis

→ bursa Fabricii: hipertrofija (2x povečanje), edem, krvavitve in sirasti eksudat,

atrofija

→ kazeozni izcedek iz burse Fabrcii → na vrhuncu bolezni pa pridejo do popolne

atrofije burse

* histološke spremembe
* bursa Fabricii: popolna limfopenija foliklov, edem burznih plik, krvavitve
* timus: nekrotična žarišča v skorji timusa
* vranica: izguba limfocitov bele pulpe, proliferacija makrofagov
* kostni mozeg: akutna nekroza hematopoeskih celic
* iliocekalne tonzile: limfopenija
* generalizirana vnetne reakcije pljuč in črevesju

* bursa Fabricii
* stopnja prizadetosti na osnovi izgube limfocitov iz folikolv in atrofije burznih plik

0 – ni sprememb

1 – fokalna limfocitoliza v 25% foliklov

2 – 50% prizadetih foliklov, perifolikularne hemoragije in edem plik

3 – 75% prizadetih folikov, fibroplazije, nastajanje cist, peri in interfolikularne krvavitve,

edem

4 – popolna atrofija plik, fibroplazija, cistična degeracija, zgodnja limfoidna repopulacija

* timus

0 – ni sprememb

1 – blaga lokalna limfocitoza

2 – multifokalna limfocitoza, blaga difuzna atrofija skorje timusa

3 – srednje izražena atrofija z …

4 – difuzna atrofija skorje, nekroza skorje in medularnega dela timusa

* izgleda kot zvezdasto nebo
* vranica, iliocekalne tonzile

0 – ni sprememb

1 – hiperemija ???

2 – fokalna limfocitoliza in proliferacija makrofagov

* kostni mozeg

0 – ni sprememb

1 – izguba hematopoetskih celic, ???

2 – makrofagi in heterofilci v sinusoidah

* imunosupresija
* okužba z GBV vpliva na višino homolognega odgovora, kot tudi celično imunost
* zaradi propadanja limfocitov B v imunokompetentnih organih, predvsem pa v bursi Fabricii, je zmanjšano št. Krožečih limfocitov B Ig M+
* imunosupresivno delovanje virusa se tako kaže v slabših prizvodnih rezultatih, pogostejših sekundarnih okužbah in slabšim imunskim odgovorom na zaščitna cepljenja
* izolacija in identifikacija virusa
* izolacija na kokšjih embrijih

→ klasični BGV: uspešna

→ zelo patogena: le delno uspešna

* izolacija na tkivnih in celičnih kulturah

→ klasični GBV: uspešna

→ zelo patogene GBV: le delno uspešna

* biološki poskusov: 6 tednov stari SPF piščanci
* dokaz Ag v modificiranem imunodifuzijskem testu - Ag je možno potrditi v bursi Fabricii z monospecifičnim serumom do 5 dne po okužbi
* elektronsko mikroskopska preiskava
* IF
* imunsko encimski test
* imunohistokemične preiskave
* posredni dokaz – serološke preiskave (AGP, ELISA, SNT)
* ugotavljanje virusa in njegovih antigenskih lastnosti z molekularnimi metodami
* izolacija RNA
* pomnoževanje RNA z metodo RT-PCR (RT=reverzna transkripcija)
* določitev nukleidnega zaporedja produkta RT-PCR
* določitev Ak zaporedja
* primerjava zaporedja z znanimi zaporedji izolatov iz genomske banke (traja 5-6 dni)
* dokaz virusa GB v Sloveniji
* izolacija na SPF piščancih (visoka smrtnost živali 50-56%)
* RT-PCR (dokaz v burzah, ileocekalne tonzile, timus, kri, vranica)

→ detekcija GBV RT-PCR produktov v gel-elektroforezi

|  |  |
| --- | --- |
| organ | dni po okužbi |
| burza | 1-22 |
| cekalne tonzile | 1-10 |
| timus | 6 dan |
| vranica | 2-10 |
| levkociti | 8 dan |

* PCR ELISA (bolj specifična za izolacijo)

|  |  |
| --- | --- |
| organ | dni po okužbi |
| burza | 1-22 |
| cekalne tonzile | 1-12 |
| timus | 2-10 |
| vranica | 2-15 |
| levkociti | 3, 4, 8 dan |

* tipizacija virusov BG

→ v primerjavo vključimo zaporedja (sekvence) virusnih sevov ????

* rezultati
* Ak zaporedje vseh slovenskih izolatov je identično in je enako zaporedje pri zelo patogenih sevih
* ohranjene so Ak, ki so tipične
* se razlikujejo od klasičnih in atenuiranih sevov
* pri primerjavi nukletidnih zaporedij se ugotovi

→ sevi so zelo virulentni

→ mesto 218 v zaporedju

* vsi zelo patogeni sevi imajo to mesto spremenjeno
* manj patogeni sevi imajo na tem mestu G (gvanin)
* molekularna analiza sevov iz leta 2004

izvor infekcije ni isti

isti izvor infekcije

adentično Ak zaporedje

tipični zelo virulentni sevi

* diferencialna diagnoza
* aviarna anemija
* hemoragične diateze
* zastrupitev z NaCl
* nefropatogena oblika IBV
* imunoprofilaktični programi proti GB – do pojava zelo patogene oblike GB
* matične jate:

→ cepljenje z živim cepivom 3-5 teden (p/o)

→ revakcinacije z inaktiviranim cepivom (stari 17-18 tednov i/m)

* brojlerji

→ necepljeni ali živo cepivo 3 tedne (p/o)

* konzumne nesnice

→ necepljene ali program enak matičnim jatam

* po letu 1993 se je začela izvajati ta imunoprofilaksa
* protitelesa se prenesejo na potomce 75%
* vpliv stopnje maternalnih protiteles (MDA) na čas izbruha in mortalnost
* nizka stopnja

→ pojav bolezni med 9-12 dnevom starosti

→ mortalnost: 6,0% pri brojlerjih, manjše ekonomske izgube

* visoka stopnja

→ pojav bolezni 31-35 dni starosti

→ mortalnost 4,1 (1,2-10%)

→ večje ekonomske izgube

* graf (preriši iz lista št.40)
* cepimo, ko titer pade tako nizko, da se cepivo prodre v organizem (2-4 tedne so nezaščitene)
* cepiva proti GBV

učinkovitost

varnost

* bolj virulentna cepiva so bolj nevarna za poškodbe ruse Fabriciae
* blaga virulentna cepiva pa niso učinkovita
* blaga visoko atenuirana (Winterfield 2512)
* intermediarna VM 691, D78, PB6 98

→ povzroča spremembe na bursi Fabricii

→ narajena na eni pasaži in je izjemno patogena

* intermediarna plus 228E
* »Hot« 849 V
* inaktivirana cepiva
* graf (preriši iz lista) št. 42???
* imunoprofilaktični program za brojlerje
* nizka stopnja MDA

→ živo cepivo intermediarni sevi

→ 8-15 dan

* visoka stopnja MDA

→ živo cepivo intermediarni sevi

→ 15-22 dan

* potek cepljenja

→ nizka stopnja maternalnih Ig → 2x zgodaj cepimo

→ visoka stopnja maternalnih Ig → 2x cepimo kasneje

→ s takim načinom cepljenja zajamemo vso populacijo

* vakcinalni program za matične jate
* 2-3x aplikacija intermediarne žive vakcine
* ????????
* tudi pri nesnicah se 2x cepi z ???-inaktivnim-??? cepivom