

BOLEZEN GUMBORO

- ◆ značilnosti
 - pravilno ime bolezn je Gumborska bolezen (uradno Slovensko ime)
 - Gumboro je vasica v Ameriki
 - odkrili leta 1962 Cosgrove
 - povzročča imunosupresijo

- ◆ bolezen
 - zelo kontagiozna akutna, virusna limfocitotoksična 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

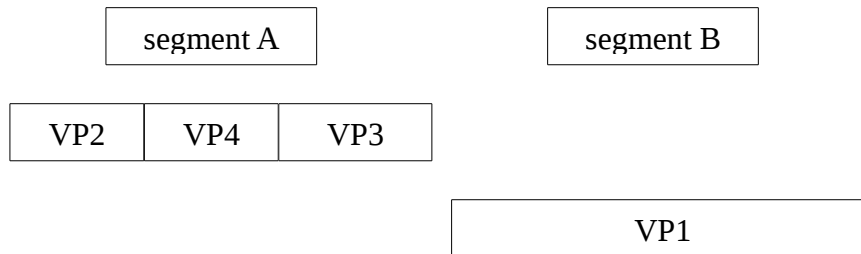
- ◆ virusi bolezn Gumboro
 - Avibimavirusi (Birnaviridae)
 - dvovijačna RNA (dsRNA)
 - 53-60 nm
 - ikozaedrične oblike
 - nimajo ovojnice
 - zelo odporni: rezistentni na eter in kloroform, pH 12 – inaktivacija, pH – neobčutljiv, termostabilen (60°C – neobčutljivi; večina virusov propade pri 56 °C)

- ◆ 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 (strukturni protein)
 - VP4 28-kDa (strukturni protein)
 - VP5 164-kDa (nestrukturni protein, povzročča apatozo – tudi VP2 povzročča 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 bolezn 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«



- VP2 je spremenljiv 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 mortality, 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 virus 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, cecalne 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 dnevih
 - patoanatomske spremembe:
 - dehidracija
 - petehialne krvavitve v prsni in bederni muskulaturi (ni pravilo, da so krvavitve petehialne, 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 Fabricii → 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 foliklov 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 foliklov, 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 hematopoeskih 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 GBV: 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

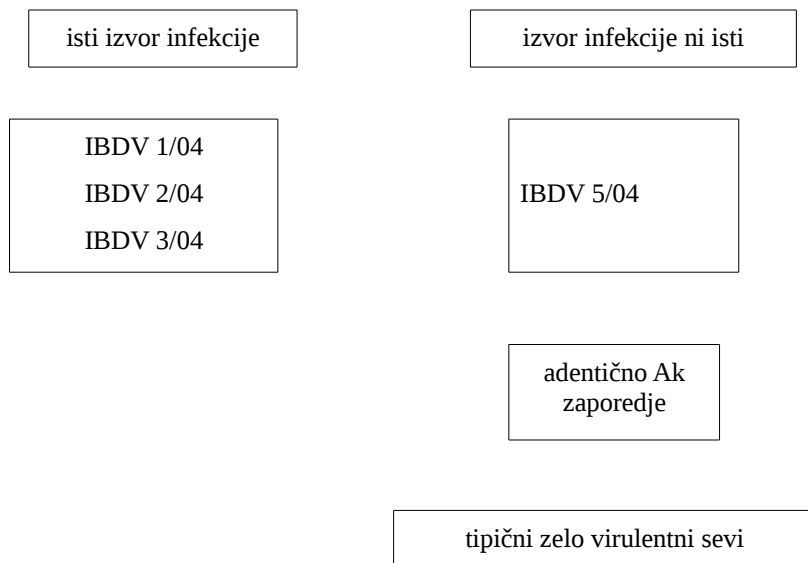
- PCR ELISA (bolj specifična za izolacijo)

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 nukleotidnih 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



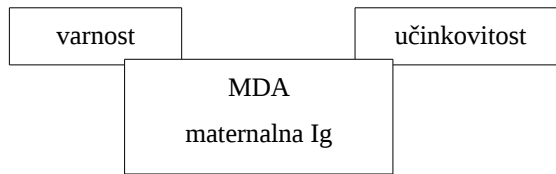
- ◆ diferencialna diagnoza
 - aviarna anemija
 - hemoragične diateze
 - zastrupitev z NaCl
 - nefropatogena oblika IBV

- ◆ 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



- 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
 - povzročča 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???
- ◆ imunoprolifaktični 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