MAREKOVA BOLEZEN

* sinonimi
* nevritis, nevrolimphomatosis gallinarum, akutna Marekova bolezen, nevrolimtomatoza, okularna limfomatoza, visceralna limfomatoza
* Marek je bil profesor na kraljevi šoli v Budimpešti
* niso vedeli kaj povzroča bolezen, saj se istočasno kaže levkoza (vzrok za levkozo je drugi virus)
* najbolj primeren sinonim je nevrolimtomatoza
* je najbolj preiskana bolezen pri perutnini
* najpogostejša limfoproliferativna bolezen perutnine
* karakteristične mononuklearne infiltracije v različnih tkivih

→ perifernih živcih

→ gonadah

→ irisu

→ različnih visceralnih organih

→ muskulaturi

→ koži

→ ni izpuščen noben organ (tudi perje)

* zgodovina
* prvi opis leta 1907 kot prehodna pareza pri petelinih (Marek)

→ pri petih letih je opazil tranzentno parezo = prehodna parezo

* do leta 1914 so bolezen potrdili v ZDA, na Nizozemskem in v VB (spremembe v perifernem živčevju, slepota, spremembe na visceralnih oragnih)
* 1949-1960 izbruhi tki. akutne Marekove bolezni (spremembe organov v visoko mortalnostjo)
* virus je striktno vezan na celico → težave pri izolaciji virusa → 1969 so bolezen poimenovali po Mareku
* 1970 pojav visoko virulentnih sevov virusov (prve vakcinacije in 80% smrtnosti)
* konec 70-ih let so vakcinirali → prišlo je do spremembe virusa – postal je bolj virulenten → izdelali so novo vakcino → virus je postal še bolj patogen → izbruh bolezni
* virus je uibikvitarno prisoten
* pojavljanje bolezni

→ v vseh državah z razvito perutninsko proizvodnjo

→ velika gostota perutnina na ožjem področju

* povzročitelj
* alfaherpesvirus (Herpesviridae)

→ najprej so uvrščali virus med gamaherpesvirus – ker je povzročal neoplazmo

* DNA virusi z linearno dvojno vijačnico

→ ko virion nima popolno izoblikovane DNK je zelo majhen

* trije serotipi MB virusa

→ serotip 1: onkogeni sevi MBV (povzroča neopazme)

→ serotip 2: neonkogeni sevi MBV (nima transformacijske faze; pogost pri piščancih)

→ serotip 3: apatogeni in antigenski sorodni herpes virusi izolirani pri puranih (HVT);

 podoben 1 in 2 serotipu, vendar ga najdemo samo pri puranih

* nevtralizacijski test, monoklonalna protitelesa
* razlike med sevi v dolžini dolge regije in kratka reagija

→ razlike med serotipi je v dolgi regiji (sprožajo proces onkogena)

* virus vezan na celico (vgrajen v celico, cell associated)
* virusi brez ovojnice niso virulentni

* strukturni proteini viriona
* membranski glikoproteini (gB, gC, gD, gH in gL) so odgovorni za širjenje virusa iz celice v celico (prehaja s fuzijo)
* glavni imunogeni protein je gB – sproži nastanek nevtralizacijskih protiteles
* gC kodira virusni Ag A, ki je odgovoren za patogenost in onkogenost virusov MB (gC je pri vseh treh serotipih)
* gD kodira protein pomemben pri fuziji in penetraciji v celico gostiteljico
* okužene celice gredo do neokuženih celic in povročijo transformacijo celic – tumorske celice

* geni povezani z onkogenostjo MBV serotipa 1
* Meq, ki se izrazi v tumorsko spremenjenih celicah
* fosforiliran protein pp38, ki je pristen v citoplazmi latentno inficiranih celic in tumorsko spremenjenih celicah (serotip 1 kot tudi serotip 2)
* serotip 2 določa določeno stopnjo sprememb
* ponavljajoča se področja velikosti 132 bp
* klasifikacija virusov MB glede na serotip in patotip

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| serotip | patotip | oznaka (predstavnik) |
| 1 | atenuiransrednje patogenvirulentenzelo virulentenzelo virulenten plus | HPRS 16m (HPRS 17, Conn-A)v (GA, JM, HPRS 16)vv (RB1B, Md5, Md 11)vv+ (584 A) |
| 2 | neonkogeni – piščanci | (SB-1, HN-1, HPRS 24) |
| 3 | neonkogeni - purani | HVT (FC 126, HPR S26, W THV-1) |

* HVT = verpes virus turky
* serotpi 2 se pogosto uporablja za cepiva, ker nima citolitičnih faz razmnoževanja in ne povzroča transformacije
* ko je Marek ugotovil bolezen je obstajal serotip 1
* pri spremembe serotipa 1 so se po 1990 začeli okuževati in zbolevati tudi purani
* biološke karakteristike serotipov
* serotip 1: dobra rast na račjih fibroblastih ali ledvičnih piščančjih celicah
* serotip 2: počasna rast na piščančjih fibroblastih (CEF)
* serotip 3: hitra in dobra rast CEF (cells embrio fibroblast)
* atenuirani sevi ne sprožijo nastanka antigena A (patogenost in onkogenost)
* 4-8 mesecev pi sobni temperaturi, 4 leta pri 4 °C
* občutljiv na nizek pH (<3)
* 500 dni je vezan na dendritske celice (zelo obstojen virus)
* da dobimo iz onkogenih neonkogene lastnosti virusa je potrebnih do 52 pasaž
* vsaka farma je okužena s herpes virusom, vendar ni izbruha, ker so dobro organizirani vakcinalni programi
* spreminjanje virulence

graf (list???)

* 1940 – mezogena oblika
* 1960-1970 – vakcina serotip 3 → spremembe virusa
* če bi naredili okužbo SPF piščancev s serotipom 1 bi bil pogin 5-6%, pri okužbi z vv+ pa bi bil pogin 90% piščancev
* gostitelj
* kokoši (gallus gallus) – primarni gostitelj virusa MB
* druge vrste ptic: bolezen se redko pojavlja (japonske prepelice, fazani, race, purani)
* virus iz rac in fazanov lahko povzroči spremembe pri piščancih
* patogeneza
* okužba prek respiratornega trakta
* pljuča – fagociti prevzamejo virus (ga ne uničijo) in ga prenesejo v Burzo fabricii, timus in vranico
* citolitična (uničajoča) faza infekcije (6-7 dni PI): primarne tarčne celice limfocitov B

→ vnetna reakcija (migracija – influks makrofagov, timocitov, limfocitov in

 granulocitov na mesto vnetja)

* latentna (prikrita) faza infekcije (7-8 dan po infekciji): primarne tarčne celice limfociti T – viremija, limfociti perifernega krvnega obtoka) – prehodna imunosupresija

→ sam virus v tej fazi ni popolnoma genetsko izgrajeni, zato niso infektivni

* druga faza citolitične infekcije (2 teden):

→ periferni limfociti raznesejo virus v različna epitelna tkiva (ledvica, žlezovnik,

 gonade, pljuča, periferni živci, golša, perni folikli) in imunokompetentne organe

→ širjenje virusa iz okuženih v zdrave celice preko intracelularnih mostičkov (fuzija)

→ faza transformacije (rakava preobrazba); formacija limfomov v organih: CD 4+,

 aktivirani T limfociti, T celice pomagalke (najprej po 2 tednih, pogosto kasneje)

→ razvoj limfomov vodi do masivniih sprememb, ki privedejo do motenj v delovanju

 organov, klinični znaki obolenja in pogin

* virus z ovojnico – infektivni virus se nahaja le v parnih foliklih
* rakava preobrazba ni vedno nujna lahko je samo latentna faza
* shema ptogeneze ???
* neonkogeni virusi MB
* pri razmnoževanju ni produktivne citolitične infekcije v limfatičnih organih in drugih tkivih
* virus pa je vseeno mogoče izolirati iz periferne krvi in organov
* za izolacijo moramo vzeti limfocite
* serotip 2 in 3
* prenos infekta
* epitelne celice keratinskega sloja pernih folikolv (primarno mesto infektivnega virusa)
* direktni in indirektni kontakt
* veliko živali je nosilcev virusa, čeprav so videti klinično zdrave
* vertikalnega prenosa bolezni ni
* latentno okužene živali izločajo virus
* inkubacijska doba
* nekaj dni do več tednov, odvisno od:

→ serotipa in patotipa virusa

→ doze

→ statusa maternalnih protiteles

→ načina infekcije

→ starosti (9 tednov)

→ genetike (lahke pasme bolj)

→ spola (bolj občutljive ♀)

* pojav kliničnih znakov redko pred 3-4 tednom

→ MB pojavlja po 9 tednom razvoja

→ pri nekaterih hibridih se bolezen javlja še kasneje, že v fazi nesnosti

→ nikoli pa MB ni bila potrjena pri kokoših starejših od 60 tednov

* najpogosteje se piščanci okužijo pri izvalitvi
* klinična faza se lahko pojavi 20 dni po infekciji
* najpogosteje znaki se pojavijo pri 9 tednih starih piščancih, če nimajo predhodne zaščite pa pri 4 tednih starih piščancih
* klinična slika
* MB je zelo kompleksno obolenje
* prehodna paraliza, vnetne reakcije, neoplazme
* imunosupresija
* arteroskleroza
* klinični znaki
* živčna oblika:

→ asimetrična pareza do popolne paralize ekstremitet

→ spuščena krila

→ povešane glave, tortikolis

→ otežkočeno dihanje

→ razteg ene noge naprej, druge nazaj (kot bi skakali čez ovire)

→ ataksija

→ živčna oblika skoraj vedno prisotna, vendar redkeje

→ manj patogeni sevi – paraliza premine v 2 dneh

→ 1907 – Marek → prehodna paraliza je posledica edema možganov

* visceralna oblika (akutni izbruhi)

→ prizadeto večje število živali

→ depresija

→ ataksija

→ kasneje delna ali popolna paraliza ali pareza

→ ni vedno klinično opazno

* okularna limfomatoza

→ živali so občutljive na svetlobo

→ točkovna depigmentacija irisa, v hujših primerih difuzna siva depigmentacija (ne

 vidijo hrane, vode → pogin)

* nespecifični znaki

→ izguba telesne teže, anoreksija, driskavost

→ pogini zaradi stradanja in dehidracije

* kožna oblika

→ tumorji na podkožju in na koži

→ perni folikel izrašča iz kože in se na tem mestu pojavljajo tumorji

→ ni pogosta

* morbidnost in mortalnost
* zelo variabilni
* virulentnost povzročitelja
* produkcija interferona
* stres
* druge imunosupresivne bolezni (Aviarna anemija, Gumboro, …)
* genetska rezistenca ni vezana na infekcijo, temveč na klinično manifestacijo bolezni
* nevakcinirani: mortalnost med 10-30 % (težki tip), pri lahkih nesnicah tudi 80%
* vakcinirani: mortalnost do 5%
* mortalnost perzistira 4-10 tednov
* večina obolelih živali pogine
* prisotnost maternalnih protiteles reducira obolevnost
* pato-morfološke spremembe
* prehodna paraliza:

→ posledica vazogenega edema možganov in meningitisa

→ blaga difuzna celična infiltracija v možganih

→ vnetje možganskih ovojnic

→ proliferacija endotela kapilar (vazogeni edem) – ko izgine vazogeni edem izgine

 tudi paraliza

* živčna oblika – periferni živci (živci sciatičnega in brahialnega pleksusa, vagus)

→ periferni živci so zadebeljeni (2-3 x povečani)

→ izguba prečne progavosti

→ edem

→ sprememba barve

→ spremembe perifernih živcev je lahko enostransko ali obojestransko

* patološke spremembe na perifernih živcih
* spremembe tipa A se nadaljujejo v spremembe tipa B
* spremembe tipa A

→ neoplastične narave: proliferacija limfoidnih celic, včasih je prisotna tudi

 demielizacija in proliferacija Schwamovih celic

* spremembe tipa B

→ vnetne spremembe, edem in infiltracija malih limfocitov in plazmatk

* okularna oblika
* depigmentacija irisa
* konjuktivitis
* edem corneae
* ???
* kožna oblika
* nodularni tumorji kože – perni folikli
* limfoidni tumorji – neoplazme
* splošno: 2-3x povečanje organov, spremembe barve, prerez – slaninaste spremembe
* testisi – nodularne spremembe (povečani)
* ovariji: nefunkcionalni folikli s sivkastimi področji, disfunkcije foliklov
* pljuča – nodularne spremembe
* srce: nodularni tumorji v miokardu
* ledvica (sive spremembe)
* jetra – perivaskularni nodularni tumorji (velika jetra – vzrok lahko Marek ali levkoza)
* vranica: difuzni tumorji
* burza fabricii: interfolikularna distribucija tumorskih celic, atrofija
* timus: atrofija
* pankreas
* žlezovnik: zadebeljena stena z dobro izraženimi levkotičnimi spremembami
* črevesje, mezenterij
* skeletna muskulatura (prsne mišice)
* visceralni organi
* limfoidni tumorji: proliferajoče limfoidne celice – retikularne celice, limfoblasti in mali, srednji ter veliki limfociti (T in B limfociti – T so bolj prizadeti kot B limfociti, makrofagi)
* bursa fabricii: hiperplazija, tumorji v iterfolikularnem tkivu, ciste, lahko pride do atrofije
* timus: degenerativne spremembe
* imunosupresija okvara humoralne in celularne imunosti
* način delovanja:

→ litična (uničujoča) infekcija limfocitov B in nato transformacija limfocitov T

→ zmanjšan odgovor na vakcinacije

→ višja dovzetnost živali za sekundarne okužbe (kokcidioza)

* imunski odgovor
* nespecifični imunski odgovor: aktivacija makrofagov, celice naravne ubijalke, citokini
* celični imunski odgovor: funkcijske T celice (CD 4 in CD 8) pomembne za rezistenco na okužbo
* humoralni odgovor: nekaj dni po okužbi (6-7), nevtralizacijska in percitacijska protitelesa, perzistirajo vse življenje
* vakcinalni odgovor: imunost deluje na tumorske antigene ščiti pred zgodnjo replikacijo virulentnih sevov
* diagnostika
* izolacija virusa na tkivnih kulturah
* detekcija antigena: PCR, IF, imunodifuzija, imunoperoksidazni test, elektronsko mikroskopija (perni folikli, koža, dendritus)
* dokaz Ab:

→ AG P test, ELISA in IIF test

→ perni folikel zabodemo v agar s Ig – pride do migracije protiteles proti peresnemu

 foliklu

* diferencialna diagnostika
* limflatična levkoza
* retikuloendotelioza
* mieloblastoza
* eritroblastoza
* karcinom ovarija
* pomanjkanje riboflavina
* tuberkuloza
* kriteriji diferencialne diagnoze
* kriteriji okužbe: zelo kontagiozna bolezen, okužena vsa perutnina v jati
* kriteriji patoloških sprememb: periferni živci, neoplazme v drugih organih ?? (spremembe na visceralnih organih)
* sum

→ povečanje perifernih živcev

→ limfoidni tumorji organov živali do 16 tedna

→ razbarvanje irisa (ni pri limfatični levkozi)

* retrovirusi se ne pojavljajo masovno, medtem ko Marekova bolezen se pojavlja masovno
* imunoprofolaktični programi
* v preventivi marekove bolezni se uporabljajo cepiva, ki vsebijejo atenuirane seve serotipa 1, virusa serotipa 2 ali puranje seve HVT
* neonkogeni virusi serotipa 2 se običajno uporabljajo hkrati s serotipom 3, ker delujejo sinergistično
* preventiva in kontrola - imunoprofilaksa
* vsebina serotipa 1:
	+ atenuirana virulenca vakcine serotipa 1, virulentni sev HPRS-16 (???16 ali 1G???) – vezana na celico (prva vakcina, redka uporaba)
	+ atenuirana srednje virulentna vakcina serotipa 1: CV1988/Rispens (virus vezan na celico): uporablja zelo pogosto, posebaj v kombinaciji s HVZ vakcino
	+ vakcine zelo virulentnih sevov MB (neregistrirane): dajejo dobro zaščito predvsem v povezavi s sočasno vakcinacijo s HVT
* vakcine serotipa 2 (nepatogeni sevi):
	+ sev SB 1 – virus vezan na celico: relativno dobra zaščita pred okužbo z virulentnimi sevi, ne pa proti zelo v sevom MBV
	+ kombinacija z HVT vakcino ???
* vakcine serotip 3 (puranji nepatogeni sev):
	+ HVT vakcina – sev Fc126: dobra zaščita proti virulentnim sevom, slabša proti zelo virulentnim sevom
* vakciniranje
* bivalentne / trivalentne
* SB1 + HVT
* 301 B/1 + HVT
* CVI 988 + HVT
* aplikacija
	+ i.m. ali s.c. en dan starim piščancem v valilnici ali 16-18 dan inkubacije (in ovo)
	+ cepi se vse, ki živijo dlje od 6 tednov
* vakcine pri nas sestavljajo najmanj dva seva
* vsa cepiva so živa
* 301 B/1 je klon
* vakcine so hranjene v tekočem dušiku (izbruh bolezni je najpogosteje napaka pri manipulaciji z cepivom) – ko odpremo stekleničko s cepivom jo moramo porabiti v 2 urah
* sinergizem ???
* preventivni ukrepi
* izredno pomembna higiena kot tudi način vzreje (virus stalno prisoten)
* mladi piščanci naj bi bili vzrejeni ločeno od starejših živali najmanj 2-3 mesece
* all in, all out sistem
* dezinsekcija, dezinfekcija