

MAREKOVA BOLEZEN

- sinonimi
 - nevritis, nevrolymphomatosis gallinarum, akutna Marekova bolezen, nevrolymptomatoza, 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 nevrolymptomatoza
 - 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 tranzientno parezo = prehodna parezo
 - do leta 1914 so bolezen potrdili v ZDA, na Nizozemskem in v VB (spremembe v perifernem živčevju, slepota, spremembe na visceralnih organih)
 - 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 (povzročata neoplazme)
 - 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 onkogeno)
- 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 grede 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	atenuiran srednje patogen virulenten zelo virulenten zelo virulenten plus	HPRS 16 m (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
- serotipi 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 zbolevali 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 embryo fibroblast)
 - atenuirani sevi ne sprožijo nastanka antigena A (patogenost in onkogenost)
 - 4-8 mesecev pri 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 masivnih 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 foliklov (primarno mesto infektivnega virusa)
 - direktni in indirektni kontakt
 - veliko živali je nosilec virusa, čeprav so videti klinično zdrave
 - vertikalnega prenosa bolezn 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 plexusa, 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
 - konjunktivitis
 - 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 mišičnina (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 interfolikularnem 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 peritacijska 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
 - limfatična 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:
 - o atenuirana virulenca vakcine serotipa 1, virulentni sev HPRS-16 (???16 ali 1G???) – vezana na celico (prva vakcina, redka uporaba)
 - o atenuirana srednje virulentna vakcina serotipa 1: CV1988/Rispens (virus vezan na celico): uporablja zelo pogosto, posebjaj v kombinaciji s HVZ vakcino
 - o vakcine zelo virulentnih sevov MB (neregistrirane): dajejo dobro zaščito predvsem v povezavi s sočasno vakcinacijo s HVT
 - vakcine serotipa 2 (nepatogeni sevi):
 - o sev SB 1 – virus vezan na celico: relativno dobra zaščita pred okužbo z virulentnimi sevi, ne pa proti zelo v sevom MBV
 - o kombinacija z HVT vakcino ???
 - vakcine serotip 3 (puranji nepatogeni sev):
 - o 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
 - o i.m. ali s.c. en dan starim piščancem v valilnici ali 16-18 dan inkubacije (in ovo)
 - o 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

- vaccine 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
 - dezinfekcija, dezinfekcija