

Szczepienia psów i bydła przeciwko babeszjozie

Łukasz Adaszek, Stanisław Winiarczyk

z Katedry Epizootiologii i Kliniki Chorób Zakaźnych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Babeszjozy zwierząt są transmisyjnymi chorobami przenoszonymi przez kleszcze. Ich czynnikiem etiologicznym są wewnętrzerytrocytarne pierwotniaki należące do rodzaju *Babesia*, rodziny Babesidae, rzędu Piropasmida, typu Apicomplexa (1).

Babeszjoza bydła jest chorobą notowaną na całym świecie, zwłaszcza w krajach położonych na obszarach subtropikalnych.

Obecnie wyróżnia się co najmniej kilkanaście gatunków rodzaju *Babesia* patogennych dla tych zwierząt. Na podstawie morfologii ich komórki wyróżnić można małe *Babesia*: *B. bovis* oraz *B. divergens*, oraz duże, do których należą: *B. bigemina*, *B. major*, *B. occultans*, *B. opata*, *B. jakimovi* (2). W większości przypadków kształt komórek *Babesia* jest gruszkowaty

lub owalny, zaś ich wielkość waha się od 1,5 μm (*B. divergens*) do 4–5 μm (*B. bigemina*). Wektorami pierwotniaków są kleszcze *Boophilus*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Haemophysalis* oraz *Ixodes* (3).

Gatunkami *Babesia* będącymi przyczyną największych strat ekonomicznych w hodowli bydła są: *B. bovis* i *B. bigemina*. Inny gatunek pierwotniaków *B. divergens* może być przyczyną ciężkiej choroby i upadków zwierząt w niektórych częściach Europy (4, 5, 6).

Patogenne dla psów *Babesia* można zakwalifikować, podobnie jak w przypadku bydła, do dwóch grup: dużych *Babesia*, o wielkości około 3–5 μm , określanych mianem *B. canis*, oraz mniejszych, o wymiarach 1–3 μm – *B. gibsoni* (7). Analiza genów 18S RNA, Bc28,5,8S, hsp70 i cytochromu B wykazała, że w rzeczywistości

Vaccination of dogs and cattle against babesiosis

Adaszek Ł., Winiarczyk S., Department of Epizootiology and Clinic of Infectious Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

This review presents the principles of vaccination strategies in the control of dogs and cattle babesiosis. Babesiosis is an important tick-borne disease caused by protozoa of genus *Babesia*. Both, canine and bovine babesiosis, can be controlled with the help of vaccines. Development of an efficacious vaccine has resulted from the observation that animals which have recovered from natural infection remained resistant to subsequent challenge with *Babesia*. Further investigations have shown that blood from recovered donors given to healthy recipients did not produce severe form of babesiosis. In recent years many attempts were made to elaborate efficacious vaccines for dogs and cattle. There are live and killed vaccines available already on the market. Here, the currently used products, vaccination protocols and their benefits and disadvantages were presented.

Keywords: protozoa *Babesia*, vaccination, dogs, cattle.

czynnikiem etiologicznym babeszjozy psów są liczne gatunki *Babesia*. W obrębie małych piroplazm wykazano następujące gatunki: *B. conradae*, *B. microti*-like, określaną także jako *Theileriaanna* lub „izolat hiszpański”, oraz *Theileria* spp. (8, 9, 10). Z kolei w obrębie dużych piroplazm wyróżnia się trzy gatunki, początkowo uznawane za podgatunki *B. canis*: *B. rossii*, *B. canis* i *B. vogeli* oraz stosunkowo niedawno wykryte u psów w USA nienazwane jeszcze duże *Babesia* (11, 12, 13, 14). Wszystkie one charakteryzują się identyczną morfologią komórki, jednak ich geograficzny zasięg występowania, struktura genetyczna i zjadliwość są różne. Pierwotniaki te przenoszone są także przez różne gatunki kleszczy (14, 15, 16).

Ponieważ zarówno babeszjoza bydła, jak i psów stanowią istotny problem terapeutyczny w medycynie weterynaryjnej, a dodatkowo w hodowli pierwszego z wymienionych gatunków zwierząt inwazja pierwotniakami przyczynia się do znacznych strat ekonomicznych, coraz częściej podejmowane są próby opracowania planów zapobiegania występowaniu tych chorób, w tym immunoprofilaktyki swoistej.

Profilaktyka przeciwko ektopasożytom

Babeszjoza należy do chorób transmisyjnych, której głównym wektorem są kleszcze, dlatego w zapobieganiu inwazji pierwotniakami dużą rolę odgrywa profilaktyka przeciwko ektopasożytom. Z badań

przewodzonych w Australii (17, 18) wynika, że odsetek kleszczy *Boophilus microplus* zarażonych *B. bovis* oraz *B. bigemina* jest niski i wynosi odpowiednio 0,04 i 0,23%. Wskazuje to na stosunkowo niewielkie zagrożenie inwazją pierwotniakami dla bydła. Należy mieć jednak na uwadze fakt, iż w momencie wystąpienia babeszjozy u krów, stanowią one rezerwuuar pasożyta dla kleszczy, w związku z czym przedstawione powyżej wartości dotyczące zarażonych pączęczaków będą rosły. Zalecaną metodą profilaktyki przeciwko ektopasożytom u bydła jest stosowanie preparatów typu pour on. Z tej grupy należy jednak wykluczyć iwermektynę, która stosowana u bydła zarówno w postaci iniekcyjnej, jak i zewnętrznie nie chroniła przed inwazjami kleszczy *Boophilus microplus*, przenoszonymi pierwotniaki (19).

Stosunkowo skuteczną metodą zapobiegania inwazjom kleszczy u bydła, przyczyniającą się do obniżenia strat ekonomicznych, których wysokość np. w Australii może sięgać nawet 100 mln dolarów rocznie (20), jest stosowanie szczepionek przeciwko ektopasożytom.

Wykazano, iż wakcynacja bydła preparatami zawierającymi ekstrakt z narządów wewnętrznych *Boophilus microplus* przyczynia się w istotny sposób do zwalczania inwazji tych kleszczy. Przeciwciała powstałe w organizmie szczepionych osobników wnikają do ustroju pączęczaków, podczas ich żerowania na żywicielu, powodując uszkodzenie jelit kleszczy (21, 22, 23, 24).

Problem w opracowaniu preparatu komercyjnego przeciwko kleszczom wynikał z konieczności identyfikacji antygenów lub antygenów obecnych w ekstrakcie z pączęczaków. Aby tego dokonać, należało rozdzielić białka zawarte w ekstrakcie i krok po kroku analizować immunogenność każdego z nich oraz ich skuteczność w zapobieganiu inwazji tych ektopasożytów w próbach challenge. Takie postępowanie pozwoliło na identyfikację antygenów Bm28, glikoproteiny – białka błonowego obecnego na powierzchni komórek jelit kleszczy, który okazał się silnie immunogenny (24). Przeciwciała przeciwko temu białku po wnikięciu wraz z krwią żywiciela do organizmu kleszczy powodowały uszkodzenie ich jelit (20).

Aby rozpocząć masową produkcję szczepionki przeciwko pączęczakom, istniała konieczność opracowania taniej metody pozyskiwania znacznej ilości antygenów Bc28. Problem ten został rozwiązany dzięki identyfikacji genów odpowiedzialnych za kodowanie białka Bc28, a wykorzystanie różnych układów ekspresji Bc28 pozwoliło na pozyskanie jego wystarczającej ilości do produkcji immunopreparatów (20).

U psów, podobnie jak u bydła, nieswoiste metody zapobiegania babeszjozie i profilaktyka przeciwko ektopasożytom obejmują:

unikanie miejsc żerowania kleszczy (łąki, lasy), wczesne usuwanie kleszczy z powierzchni ciała psów, a także profilaktyczne stosowanie preparatów przeciwko ektopasożytom. Dostępne są one w formie obroży, sprayów oraz płynów наносzonych na skórę psów. W większości chronią one organizm psa przed inwazją kleszczy przez 4–6 tygodni. Na rynku produktów weterynaryjnych dostępne są liczne preparaty tej grupy. Najczęściej zawierają w swym składzie takie substancje czynne, jak: fipronil, amitraza, flumetryna lub imidakloprid i permetyrynę (25).

Chemioprofilaktyka jako metoda zapobiegania chorobie

Chemioprofilaktyka zapewnia krótkotrwałą ochronę przed babeszjozą. Stosowana jest głównie u zwierząt wrażliwych na chorobę, które czasowo przebywają w miejscach jej endemicznego występowania. Jedynym preparatem, który wykazuje stosunkowo długi efekt zabezpieczający zwierzęta przed pierwotniakami jest dipropionian imidokarbu. Mechanizm jego działania nie jest dokładnie poznany. Wiadomo, że pod jego wpływem dochodzi do zmian morfologicznych w komórce pasożyta (uszkodzenie jądra komórkowego, powstawanie wakuol w cytoplazmie) oraz zahamowania syntezy DNA. Ponadto lek wywołuje hipoglikemię w organizmie gospodarza, co utrudnia pasożytowi pobieranie glukozy. Imidokarb nie podlega metabolizmowi w organizmie. Jest wydalany w postaci niezmienionej z moczem i kałem. Lek wykazuje skuteczność w zwalczaniu zarówno „dużych”, jak i „małych” gatunków *Babesia*. Warto podkreślić, iż zarażenia zwierząt pierwotniakami pod koniec ochronnego okresu działania imidokarbu mogą przyjmować charakter inwazji subklinicznych (26, 27). Imidokarb można przenikać także do tkanek pasożytujących na zwierzętach kleszczy (wektorów *Babesia*), prowadząc do utraty wirulencji przez przeniesione przez te wektory pierwotniaki (1).

Lek ten stosowany u bydła w dawce 3 mg/kg m.c. zabezpiecza zwierzęta przez 4 tygodnie przed wystąpieniem klinicznej postaci choroby powodowanej inwazją *B. bovis*, przez 8 tygodni w przypadku *B. bigemina* oraz 3–6 tygodni w przypadku *B. divergens* (28, 29).

U psów jednorazowa iniekcja preparatu w dawce 6 mg/kg m.c. chroni zwierzęta przed inwazją *B. canis* przez 2–4 tygodni (25).

Mimo że imidokarb jest dość skutecznym w zapobieganiu babeszjozie, taka metoda profilaktyki nie jest jednak zalecaną z uwagi na toksyczne oddziaływanie karbanilidu, zwłaszcza na wątrobę. Ponadto jego pozostałości mogą znajdować się w mięsie i mleku bydła (6)

Immunoprofilaktyka swoista

Już w późnych latach XIX wieku zauważono, iż przechorowanie babeszjozy indukuje u bydła rozwój długotrwałej odporności, która może być przekazana wraz z krwią biorcom, u których po tego rodzaju zabiegu nie obserwuje się rozwoju choroby. Początki szczepień zwierząt, a konkretnie bydła, przeciwko babeszjozie polegały na pobieraniu krwi od osobników zarażonych pierwotniakami, które przechorowały ostrą fazę choroby i podawanie jej osobnikom wrażliwym na rozwój inwazji. Tego rodzaju uodpornienie było jednak obciążone dużym ryzykiem rozwoju choroby poszczepiennej. Dlatego w kolejnych latach podejmowano próby obniżenia wirulencji żywych pierwotniaków. W tym celu atenuowanymi szczepami *B. bovis* oraz *B. divergens* zarażano bydło poddane splenektomii. W okresie ostrej fazy inwazji od osobników tych pobierano następnie krew przeznaczoną do produkcji szczepionki (30, 31).

Badania nad immunoprofilaktyką babeszjozy u bydła i psów obejmowały opracowanie różnych strategii szczepień i szczepionek, jak: żywe atenuowane szczepionki, szczepionki zawierające w swym składzie egzoantygeny SPA, pozyskiwane z hodowli komórkowych lub osocza zarażonych pasożytami zwierząt, oraz szczepionki

zawierające antygeny pochodzące z erytrocytów zarażonych osobników. Skuteczność tych metod i preparatów jest różna. W profilaktyce babeszjozy psów najczęściej wykorzystywane są szczepionki zawierające SPA *Babesia*, podczas gdy u bydła preparaty żywe atenuowane. W Irlandii opracowano eksperymentalną skuteczną żywą szczepionkę przeciwko *B. divergens*, do produkcji której antygeny pierwotniaków (erytrocyty opadnięte pasożytami) uzyskiwano z krwi zarażonych pasożytami gerbili (32). Z kolei w Austrii od 1988 r. produkowana jest szczepionka przeciwko pierwotniakom inaktywowana formaliną (5). W tym artykule przedstawimy najbardziej popularne metody immunoprofilaktyki babeszjozy bydła i psów, przy użyciu szczepionek żywych oraz zawierających egzoantygeny SPA.

Szczepionki żywe przeciwko babeszjozie bydła

Produkcja szczepionek

Szczepionki żywe znajdują zastosowanie głównie w zapobieganiu babeszjozie bydła. Pierwsze tego rodzaju preparaty produkowane na masową skalę i dostępne na światowym rynku produktów weterynaryjnych opracowano w Australii. Początkowo pierwotniaki do produkcji żywych szczepionek

pochodziły od zwierząt doświadczalnych, na których były one hodowane i w organizmie których były one utrzymywane. Ponieważ koszty takiego przedsięwzięcia były wysokie, obecnie antygeny do produkcji szczepionek przechowywane są w ciekłym azocie, zawieszane w DMSO lub glicerolu. W tym stanie zachowują one swoją immunogenność przez 18 miesięcy. W Afryce Południowej (Onderstepoort Veterinary Institute) produkowanych jest rocznie około 150 tys. dawek szczepionek przeciwko *B. bigemina* i *B. bovis* opracowanych na bazie mrożonych antygenów (33).

Aby uniknąć niebezpieczeństwa skażenia szczepionki innymi patogenami i zapobiec transmisji chorób na zwierzęta poddawane wakcynacji, żywe szczepionki oraz osobniki, z których pozyskiwane są antygeny muszą być odpowiednio monitorowane i zabezpieczane przed zakażeniami i inwazjami. W zależności od obszaru geograficznego istnieje niebezpieczeństwo przeniesienia wraz ze szczepionką opracowaną z krwi zwierząt aż 21 różnych patogenów (33). Aby zminimalizować to niebezpieczeństwo, bydło wykorzystywane do produkcji tych preparatów poddawane jest corocznej wakcynacji przeciwko chorobom zakaźnym, a także badaniom serologicznym w kierunku: białaczki, gruźlicy, BVD-MD oraz *Brucella abortus*. Każda seria wyprodukowanej szczepionki przechodzi