



## Wścieklizna u ludzi i zwierząt – występowanie, diagnostyka, zwalczanie

*Rabies in man and animals – prevalence, diagnostics, controlling*

MARCIN SMRE CZAK, JAN F. ŻMUDZIŃSKI

Z Zakładu Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach

**STRESZCZENIE.** *W pracy wskazano klasyfikację wirusa wścieklizny i epidemiologię tej choroby na wszystkich kontynentach, w ostatnich latach. Przedstawiono typowy przebieg zakażenia u człowieka oraz u niektórych zwierząt domowych i wolno żyjących. Diagnostyka laboratoryjna wścieklizny posiada bardzo wysoką czułość. Wykorzystuje się tu głównie metody immunofluorescencji. W profilaktyce choroby istotne znaczenie ma obecnie wykładanie doustnej szczepionki dla dzikich zwierząt, głównie dla lisów. W Polsce metoda ta dała już bardzo dobre wyniki w zachodnich województwach i jest obecnie rozszerzana na cały kraj.*

**SUMMARY.** *Classification of the rabies virus and epidemiology of the disease in all continents in recent years are discussed in the paper. A typical course of rabies infection in man and in some domestic and wild animals is presented. Laboratory diagnostics of rabies, using mostly immunofluorescence methods, is highly sensitive. The currently most important method of the disease prevention consists in putting out oral vaccine for animals living in the wild, especially for foxes. Since very good results have been obtained using this method in Western regions of Poland, it is presently being implemented all over the country.*

---

**Słowa kluczowe:** wścieklizna / epidemiologia / diagnostyka / zapobieganie  
**Key words:** rabies / epidemiology / diagnostics / prevention

---

Wścieklizna jest ostrą wirusową infekcją ośrodkowego układu nerwowego [12, 16, 25, 30, 33]. Znana jest ludzkości od ponad 4 000 lat. Jako choroba, wścieklizna zawsze budziła i budzi do dnia dzisiejszego wiele obaw i strach, ponieważ jest ona jedną z najbardziej przerażających chorób znanych człowiekowi [6, 18, 30, 46]. Transmisja choroby następuje zazwyczaj poprzez pogryzienie, bowiem wirus znajduje się w ślinie chorego zwierzęcia. Na zakażenie wirusem wścieklizny wrażliwy jest człowiek oraz wszystkie zwierzęta ciepłokrwiste [6, 8, 15, 22, 30].

Pierwsza wzmianka o chorobie zawarta jest w babilońskim Kodeksie Eshnuna, który jest starszy od Kodeksu Hammurabiego i pochodzi z XXIII wieku p.n.e. W V wieku p.n.e. wściekliznę u psów opisał

Demokryt, a Arystoteles w swoim dziele *Historia Animalium* z IV wieku p.n.e. podał opis wścieklizny u psów i sposób jej transmisji. Jednakże pierwszy dokładny opis wścieklizny pochodzi z I w. p.n.e. Zamieścił go Celsusz jednocześnie podając nazwę choroby. O wściekliznie pisał Plutarch oraz Awicenna, który w Kanonie Medycyny opisał epidemiologię, klinikę, leczenie i profilaktykę choroby.

W XVI wieku Girolamo Fracastore opisał wściekliznę u człowieka, drogi zakażenia oraz zauważył, że choroba zawsze kończy się zejściem śmiertelnym. Określił on także czas inkubacji choroby od momentu pogryzienia do wystąpienia pierwszych objawów klinicznych. Do XIX w., oprócz obserwacji przebiegu choroby i kojarzenia ich

ze wściekłymi zwierzętami, poczyniono niewiele w badaniach nad wścieklizną.

Wiek XIX przyniósł szereg ważnych obserwacji będących fundamentem późniejszych odkryć Pasteura. W 1804 r. Zinke dokonał transmisji wścieklizny z psa na psa poprzez wtarcie w skaryfikowaną skórę jamnika śliny pochodzącej od chorego psa. Wykazał tym samym rolę zakaźnej śliny w transmisji choroby. Niedługo potem Magendie i Breschet dokonali przeniesienia wścieklizny na psa, używając do tego śliny pochodzącej od chorego na wściekliznę człowieka. W 1879 r. Galatier wykonał serię pasażu wirusa wścieklizny na królikach oraz stwierdził, iż owce można zabezpieczyć przed chorobą poprzez wcześniejszą dożylną iniekcję materiału zakaźnego. Na podstawie wszystkich wcześniejszych badań i badań własnych, Pasteur w roku 1885, uzyskał pierwszą szczepionkę przeciwko wściekliznie i dokonał pierwszego w historii szczepienia człowieka, który został dotknięty pogryziony przez wściekłego psa. Ponadto Pasteur i jego zespół badawczy wykazali kluczową rolę ośrodkowego układu nerwowego (o.u.n.) w patogenezie choroby. W drugiej połowie XX wieku nastąpił gwałtowny rozwój badań nad wścieklizną i wirusem wścieklizny.

Czynnikiem wywołującym chorobę jest wirus neurotropowy należący do rodziny *Rhabdoviridae* i rodzaju *Lyssavirus*. Wirion wirusa wścieklizny ma kształt pocisku karabinowego. Jego średnica wynosi 75 nm, a długość 100–300 nm. Nukleokapsyd wirusa zawiera niesegmentowany kwas rybonukleinowy o ujemnej polarności i ściśle związane z nim trzy białka: białko N (nukleoproteina), białko L (RNA zależna polimeraza) oraz białko M1 (fosfoproteina). Nukleokapsyd otoczony jest podwójną otoczką lipidową, w skład której wchodzi białko M1 (*matrix*), w którym osadzone jest białko G (glikoproteina) dające wypustki na zewnątrz wirionu [6, 18, 24].

Do rodzaju *Lyssavirus* należą oprócz wirusa wścieklizny wirusy „wściekliznopodob-

ne”. Początkowo rodzaj *Lyssavirus* podzielono na 4 serotypy na podstawie reakcji z przeciwciałami monoklonalnymi. Szczepy wirusowe izolowane od nietoperzy europejskich zostały sklasyfikowane jako jeden serotyp 5 (EBL, *European Bat Lyssavirus*) posiadający dwa podtypy – EBL1 i EBL2 [10, 11, 12, 20, 32, 41, 42, 43]. Klasyfikacja ta, której podstawę stanowiły badania serologiczne, została jednak zweryfikowana i rozszerzona na podstawie porównania sekwencji nukleotydów genu nukleoproteiny szczepów wirusowych zaliczanych do rodzaju *Lyssavirus*. Wyróżniono sześć genotypów, z których 4 pierwsze odpowiadają kolejnym serotypom, natomiast serotyp 5 podzielono na dwa genotypy, gdzie EBL1 stanowi genotyp 5, a EBL2 odpowiednio genotyp 6. W obrębie genotypu 5 i 6 wyróżniono dwa podtypy – a i b, które różnią się od siebie sekwencjami nukleotydowymi i aminokwasowymi oraz występowaniem geograficznym [2, 10, 11, 25, 26]. Ostatnio, szczepy wirusa wścieklizny izolowane w Australii sklasyfikowano jako nowy genotyp 7 w obrębie rodzaju *Lyssavirus* (tabl. 1) [1, 5, 21, 27, 29].

Mimo upływu ponad 110 lat od pierwszego szczepienia człowieka przeciwko wściekliznie choroba każdego roku powoduje zgon dziesiątków tysięcy ludzi. Prawie wszystkie zejścia śmiertelne, których przyczyną jest zakażenie wirusem wścieklizny, występują w obszarach tropikalnych, gdzie zamieszkuje 75% ludności świata. Wg szacunkowych danych Światowej Organizacji Zdrowia rocznie na świecie notowanych jest ok. 35000–45000 zgonów z powodu wścieklizny. Jednakże niektórzy badacze twierdzą, że przypadków takich jest o wiele więcej (tabl. 2). O skali zagrożenia mówi także liczba szczepień poekspozycyjnych, którym poddawanych jest każdego roku 10–12 mln. osób [5, 6, 7, 24, 45].

Kontakt z wirusem wścieklizny, który potencjalnie jest w stanie wywołać chorobę, nazywamy ekspozycją. Do ekspozycji dochodzi najczęściej w wyniku pogryzienia, przez które rozumiemy każde uszkodzenie skóry przez

Tablica 1. Klasyfikacja rodzaju *Lyssavirus*

Sero- typ	Geno- typ	Nazwa	Prototyp	Występowanie	Żywiciel
1	1	wścieklizna	<i>Challenge Virus Standard (CVS)</i>	cały świat z wyjątkiem: Nowa Zelandia, Japonia, Antarktyka, Hawaje, Skandynawia	człowiek, mięsożerne, bydło, nietoperze
2	2	<i>Lagos</i>	<i>Lagos Bat</i>	Afryka	nietoperze owocożerne, pies
3	3	<i>Mokola</i>	<i>Mokola</i>	Afryka	człowiek, ryjówka, gryzonie, pies, kot
4	4	<i>Duvenhage</i>	<i>Duvenhage</i>	Afryka	człowiek, nietoperze owadożerne
	5	<i>European Bat Lyssavirus 1</i>	<i>EBL 1</i>	Europa	człowiek, nietoperze owadożerne ( <i>Eptesicus</i> , <i>Pipistrellus</i> )
	6	<i>European Bat Lyssavirus 2</i>	<i>EBL 2</i>	Europa	człowiek, nietoperze owadożerne ( <i>Myotis</i> )
	7	<i>Pteropid Bat Lyssavirus</i>	<i>PBL</i>	Australia	człowiek, nietoperze

Tablica 2. Szacunkowa liczba przypadków wścieklizny u ludzi w ciągu roku (dane WHO)

Kontynent	Liczba zgonów
Ogółem	35 000–45 000
Europa	12–20
Ameryka Północna	4–8
Ameryka Łacińska	200–400
Afryka	500–5 000 (0,7–7%)
Azja	35 000–45 000 (>90%)
w tym: Indie	30 000–40 000 (80–90%)

zęby zwierzęcia wściekłego, czego wynikiem jest kontakt rany ze śliną tego zwierzęcia. Oprócz pogryzień, ekspozycję mogą stanowić wszelkiego rodzaju zadrapania, polizania, inhalacja aerozolu czy transplantacje tkanek pochodzących od osób lub zwierząt chorych na wściekliznę. Należy mieć jednak na uwadze, że nie każdy kontakt jest ekspozycją i nie każda ekspozycja powoduje zakażenie. Aby doszło do efektywnego zakażenia musi być obecny zakaźny wirus (znajdujący się najczęściej w śliniankach) oraz musi dojść do penetracji wirusa do wnętrza rany lub błon śluzowych [6, 19, 30].

Po ekspozycji szerzenie się wirusa wścieklizny w organizmie gospodarza przebiega wieloetapowo:

- replikacja w tkankach obwodowych,
- wędrówka wzdłuż nerwów obwodowych do rdzenia kręgowego, a następnie do mózgu,
- szerzenie się w obrębie o.u.n.,
- odśrodkowe szerzenie się wirusa wzdłuż nerwów do różnych narządów wewnętrznych, w tym do ślinianek [9, 18, 19].

Okres inkubacji, czyli czas pomiędzy ekspozycją a wystąpieniem pierwszych symptomów choroby jest bardzo zróżnicowany. Mimo, że notowano okresy inkubacji krótsze niż 30 dni i dłuższe niż 1 rok, to najczęściej okres ten wynosi 20–60 dni. W okresie tym brak jest jakichkolwiek objawów, ponieważ wirus znajduje się w komórkach mięśniowych w miejscu pogryzienia i namnaża się w tym czasie, wyłączając symptomy związane z gojeniem się rany. Pod koniec

okresu inkubacji wirus wnika do wrzecion nerwowo-mięśniowych lub do płytek motorycznych zakończeń nerwowych nerwów obwodowych i przenosi się do rdzenia kręgowego i dalszych części o.u.n. W tym czasie pojawiają się pierwsze objawy zaznaczające koniec okresu inkubacji i rozpoczęcie się okresu prodromalnego [16, 19, 22, 30].

Okres prodromalny i wczesne objawy mogą dominować w obrazie klinicznym przez 2–10 dni. Pierwsze objawy są niespecyficzne. Występuje złe samopoczucie, gorączka, uczucie zmęczenia, dreszcze, kaszel, duszność. Mogą pojawić się zaburzenia ze strony o.u.n., takie jak: bóle i zawroty głowy, niepokój, pobudliwość, nerwowość. W miarę postępowania procesu chorobowego zaczynają pojawiać się bardziej zauważalne anomalie – pobudzenie, światłowstręt, priapizm, bezgłos, koszmary nocne i depresja. Jednym ze specyficznych symptomów tej fazy jest ból lub inny rodzaj przeczulicy (gorąco, zimno, zdrętwienie, mrowienie) w miejscu pogryzienia. Przyjmuje się, że parestezja występuje w okresie replikacji wirusa i wnikania do ośrodkowego układu nerwowego na poziomie rdzenia kręgowego [14].

Okres ostrych objawów neurologicznych rozpoczyna się, kiedy w obrazie klinicznym dominują objawy dysfunkcji ze strony układu nerwowego. W okresie tym mogą występować różne formy hiperaktywności i wtedy mówimy o postaci szalowej wścieklizny. Natomiast, gdy wśród objawów dominują porażenia, to taki przypadek klasyfikowany jest jako postać porażenna choroby.

*W postaci szalowej* występuje niepokój, pobudzenie, halucynacje, ucieczki, gryzienie lub inne nienaturalne zachowania. Notowana jest hydrofobia, która uważana jest raczej za wyolbrzymiony odruch obronny ze strony układu oddechowego niż za skurcz gardła lub krtani, jak się do tej pory przyjmowało. Odruch ten trwa kilka sekund, jest wynikiem skurczu przepony i towarzyszących jej mięśni, a efektem jest duszność, której towarzyszy odruch wymiotny, co jest

interpretowane jako obawa przed wodą. Przez cały okres ostrych objawów neurologicznych w postaci szalowej wścieklizny stan psychiczny ciągle zmienia się. Występują okresy postępujących ostrych pobudzeń naprzemiennie z okresami względnej normalności. Okres ten trwa 2–7 dni kończąc się śpiączką lub nagłą śmiercią [18, 30].

*W postaci porażennej*, w obrazie klinicznym dominują objawy porażenia i w kontraście do postaci szalowej ogół doznań i reakcji zmysłowych pozostaje niezmienny. W postaci tej dochodzi do postępujących porażenia aż do paraplegii, triplegii lub quadriplegii. Paraliż może postępować aż do całkowitego porażenia, które obejmuje mięśnie odpowiedzialne za połykanie oraz mięśnie oddechowe. Z reguły przebieg tej postaci jest mniej burzliwy i pacjenci przeżywają dłużej. Okres ostrych objawów neurologicznych przechodzi w śpiączkę, która kończy się śmiercią w wyniku niewydolności układu oddechowego, lub w wyniku komplikacji sercowo-naczyniowych [16, 19].

Jeśli wystąpią objawy kliniczne choroby, wścieklizna z reguły kończy się śmiercią.

U zwierząt przebieg wścieklizny jest różny w zależności od gatunku zwierzęcia, zjadliwości wirusa oraz uwarunkowań środowiskowych [6, 9, 14, 17].

## WŚCIEKLIZNA U PSÓW

Psy są stosunkowo mało wrażliwe na zakażenie wirusem wścieklizny, a oporność na zakażenie rośnie wraz z wiekiem psa. Okres inkubacji wynosi zwykle 3–8 tygodni. Pierwsze objawy okresu prodromalnego są z reguły niezauważalne i dotyczą zmiany w zachowaniu się psa. Właściciel zaobserwować może pobudzenie, depresję lub nienaturalną, nadmierną wesołość i lizanie ludzi po rękach i twarzy. Okres prodromalny trwa zwykle 1–3 dni. Następną fazą jest faza pobudzenia, w której psy mogą wykazywać nadmierne pobudzenie ruchowe, ochryple wycie czy nienaturalne lanknienie. Psy próbują jeść drewno, ziemię, kamienie i inne nie-

jadalne przedmioty. Można je potem znaleźć w żołądku psa podczas przeprowadzenia sekcji – co jest objawem patognomicznym dla wścieklizny. W wyniku porażenia gardła występuje obfity ślinotok, któremu towarzyszy rozszerzenie źrenic, zez. Obserwuje się wzrost agresywności, pies atakuje wszystkich i wszystko, przez co staje się niebezpieczny dla otoczenia. W czasie takiego ataku zwierzęta najwyraźniej nie czują bólu raniąc sobie kufę lub łamiąc zęby. Okres ten trwa 1–7 dni. Jeśli pies przeżyje fazę pobudzenia rozwija się następne stadium choroby określane jako faza porażen. Tylne kończyny porażone są z reguły pierwsze, co sprawia, że pies chwieje się i później pada. Porażenie dotyczy także mięśni oddechowych. Pod koniec choroby u psa dochodzi do porażen nerwów mózgowych (V, IX, XII), z tego też powodu następuje opadanie zuchwy, wypadanie języka oraz zaburzenia w połykaniu. Ostatecznie chory pies popada w stan śpiączki i pada z powodu niewydolności oddechowej.

### WŚCIEKLIZNA U KOTÓW

Objawy u kotów są z reguły podobne do objawów wścieklizny psów. U 85% zakażonych kotów stwierdzano gwałtowny przebieg choroby. Kot może atakować z ogromną szybkością i dzikością. Podczas okresów ciszy koty mogą wykazywać drżenia mięśniowe, obfite pieniste ślinienie oraz rozszerzenie źrenic. W postaci cichej (porażennej) koty mruczą łasząc i przymilając się. Należy podkreślić, że kot jest zwierzęciem wysoce wrażliwym na zakażenie wirusem wścieklizny, a przez to, że żyje w bezpośrednim kontakcie z człowiekiem może sprowadzać duże zagrożenie.

### WŚCIEKLIZNA U BYDŁA

U bydła wścieklizna występuje z reguły w rejonach, gdzie notuje się wściekliznę psów lub zwierząt dzikich. Bydło jest wysoce wrażliwe na zakażenie wirusem wściekliz-

ny, lecz jest praktycznie ślepym ogniwem w łańcuchu transmisji choroby. U bydła bardzo powszechna jest porażenna postać choroby, w której zwierzęta wykazują słabość tylnych kończyn i brak koordynacji ruchowej. Paraliż mięśni gardła prowadzi do niemożności przełykania, której towarzyszy ślinotok. Objawów hydrofobii nie obserwuje się. Często wydaje się, że bydło zadławiło się, co prowadzi do ekspozycji człowieka podczas badania jamy ustnej. Postępujący paraliż prowadzi do zapaści, następnie śpiączki i wreszcie śmierci w wyniku niewydolności oddechowej. Duży odsetek przypadków wścieklizny u bydła ma przebieg nietypowy, nawet bez jakichkolwiek objawów zapalenia mózgu.

### WŚCIEKLIZNA U LISÓW

U lisów wścieklizna rozpoczyna się z reguły pobudzeniem, nienormalnym wyciem oraz anoreksją. Chore zwierzęta tracą bojaźliwość przed ludźmi, psami lub innymi zwierzętami. W fazie pobudzenia wściekłe lisy mogą warczeć i gryźć przechodzących ludzi, zwierzęta lub nawet pojazdy. W miarę postępowania choroby ataki stają się coraz bardziej nieskoordynowane i trwają do czasu, kiedy w wyniku porażen lis nie może się przemieszczać i w końcu pada wśród konwulsji.

Jak wynika z analizy danych epizootiologicznych, głównym rezerwuarem wścieklizny w Europie są zwierzęta wolno żyjące, wśród których lis zajmuje pierwsze miejsce [6, 9, 15, 45]. Według danych *Centers for Disease Control* (CDC), Atlanta, Georgia, USA, głównym rezerwuarem wścieklizny w Ameryce jest szop [18, 24, 45]. Jednakże w krajach takich jak Turcja i India wścieklizna występuje głównie u psów. Jak podają statystyki WHO 86–90% przypadków zachorowań człowieka jest następstwem transmisji wirusa wścieklizny od zwierząt domowych, głównie od psa. Nie jest jednak możliwym objęcie szczepieniami profilaktycznymi całej populacji ludzi potencjalnie narażonych na

zakażenie, ani też nie jest możliwe dotarcie ze szczepionką do wszystkich wrażliwych na zakażenie zwierząt. Dlatego też programy zwalczania wścieklizny uwzględniają trzy zasadnicze kierunki działania:

- 
- szybką, rzetelną diagnostykę,
  - uodparnianie ludzi ekspozowanych na zakażenie,
  - profilaktykę wścieklizny w ekosystemie [49].
- 

W przypadku braku typowych objawów klinicznych choroby (przykładem może tu być bydło) różnicowanie wścieklizny od zapaleń mózgu na innym tle jest bardzo trudne. Tylko diagnostyka laboratoryjna daje pewną odpowiedź. W zależności od stanu klinicznego zwierzęcia wyróżniamy diagnostykę przyżyciową i pośmiertną [6, 13, 28].

Diagnostyka przyżyciowa obejmuje głównie badanie lekarsko-weterynaryjne, które umożliwia zebranie wywiadu oraz wskazuje, czy podejrzane zwierzę mogło być źródłem zakażenia dla człowieka. Metody pozwalające na wykrywanie wirusa w ślinie (1–5 dni przed wystąpieniem objawów choroby) są, jak do tej pory, w trakcie opracowywania i oceny [28, 40]. U ludzi, do diagnostyki przyżyciowej wykorzystuje się ślinę, surowicę, płyn mózgowo-rdzeniowy, odciski z rogówki i bioptaty skóry z szyi zawierające mieszki włosowe. Jednakże diagnostyka przyżyciowa jest stosunkowo mało czuła, dając wiele fałszywie negatywnych wyników [6, 13, 19, 28, 40, 47].

W diagnostyce pośmiertnej do badań wykorzystuje się próbki mózgowia pochodzące z kory mózgowej, rogu Ammona i rdzenia przedłużonego.

Wykorzystywanych jest wiele metod do wykrywania antygeny wirusowego lub wirusa:

- 
- wykrywanie w preparatach histologicznych cytoplazmatycznych ciałek wręto-wych Negriego. Metoda ta jest mało spe-

cyficzna i zastępowana jest metodami bardziej czułymi,

- test immunofluorescencji (FAT – *fluorescent antibody test*) jest klasycznym testem, w którym wykrywany jest antygen wściekliznowy w preparatach odciskowych z mózgowia,
  - test immunoenzymatyczny (RREID – *rapid rabies enzyme immuno-diagnosis*), w którym próbki mózgowia są homogenizowane, wirowane i supernatant wprowadzany jest do zagłębień mikroplitek, na których powierzchni wyadsorbowana jest globulina zawierająca przeciwciała dla antygenów nukleokapsydowych wirusa wścieklizny. Jeśli antygeny te znajdowały się w supernatancie, to wiążą się one z przeciwciałami wyadsorbowanymi na ścianach mikroplityki. Dodanie konjugatu: przeciwciała dla antygenów nukleokapsydowych znakowane peroksydazą oraz substratu powoduje wystąpienie reakcji barwnej, której intensywność można ocenić wizualnie lub mierzyć spektrofotometrycznie,
  - izolacja wirusa na myszkach (MIT – *mouse isolation test*), która jest testem bardzo czułym i ciągle wykorzystywanym w diagnostyce. Wynik uzyskiwany jest najwcześniej po 7 dniach,
  - izolacja wirusa wścieklizny w hodowli komórek neuroblastomy (RTCIT – *rapid tissue culture isolation test*), jest testem czułym i stosunkowo szybkim. Wynik uzyskujemy już po ok. 20 godzinach [13, 23, 28, 34, 40].
- 

Obecnie, najczęściej wykorzystywanym testem jest test immunofluorescencji z zastosowaniem konjugatu antynukleokapsydowego. Czułość metod immunologicznych stosowanych w diagnostyce wścieklizny jest bardzo wysoka w stosunku do serotypu 1 wirusa, ale może być niewystarczająca do wykrycia innych serotypów. Dlatego też problem ten został rozwiązany poprzez opracowanie testu RREID-lyssa, w którym

do opłaszczania płytki używa się mieszaniny przeciwciał poliklonalnych skierowanych bezpośrednio przeciwko serotypom 1,3 i 5 wirusa wścieklizny [13, 28].

## DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA WŚCIEKLIZNY W POLSCE

Rutynowa diagnostyka, z wykorzystaniem klasycznego testu immunofluorescencji, przeprowadzana jest w Polsce w 21 laboratoriach. Są to Zakłady Higieny Weterynaryjnej (ZHW) lub Wojewódzkie Laboratoria Diagnostyczne (WLD) w takich miastach, jak: Białystok, Bydgoszcz, Gdańsk, Gorzów Wielkopolski, Katowice, Kielce, Koszalin, Kraków, Krosno, Lublin, Łomża, Łódź, Nowy Sącz, Olsztyn, Poznań, Rzeszów, Suwałki, Szczecin, Warszawa, Wrocław, Zielona Góra.

Rutynową diagnostykę wścieklizny wykonuje także Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach. Referencyjne laboratoria diagnostyczne znajdują się w Zakładzie Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach oraz Pracowni Diagnostyki Chorób Wirusowych Zwierząt Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Bydgoszczy. Wszystkie laboratoria mogą wykonywać testy immunofluorescencji oraz testy izolacji wirusa wścieklizny z wykorzystaniem myszek (MIT – *mouse isolation test*). Laboratoria referencyjne posiadają ponadto zdolność izolacji wirusa wścieklizny w hodowli komórek neuroblastomy oraz zdolność określenia miana przeciwciał dla wirusa wścieklizny metodą RFFIT (*rapid fluorescent focus inhibition test*).

W każdym z laboratoriów diagnostycznych są przynajmniej dwie osoby z prawem samodzielnego wykonywania badań diagnostycznych w kierunku wścieklizny. Prawo takie pracownicy nabywają po odbyciu stosownych szkoleń w laboratoriach referencyjnych oraz po okresie 1–2 lat stażu w laboratorium macierzystym w zakresie diagnostyki wścieklizny pod nadzorem osoby

posiadającej prawo samodzielnego wykonywania testów diagnostycznych. Pracownicy laboratoriów ZHW i WLD diagnozujący wściekliznę spotykają się regularnie na corocznych konferencjach, na których omawiana jest aktualna sytuacja epizootologiczna wścieklizny oraz problemy diagnostyki. Wszystkie laboratoria stosują w rutynowej pracy konjugat zawierający przeciwciała dla białek nukleokapsydu wirusa wścieklizny [48, 49].

Oprócz wyżej wymienionych metod diagnostycznych, jako alternatywną metodę w diagnostyce zakażeń wirusem wścieklizny, stosuje się wykrywanie wirusowego kwasu nukleinowego w próbkach mózgowia. Wykrywanie kwasu nukleinowego w ekstraktach z próbek odbywa się:

- bezpośrednio poprzez hybrydyzację z kwasami nukleinowymi komplementarnymi do sekwencji nukleotydów w wybranym regionie genomu wirusowego (sondy molekularne),
- pośrednio poprzez odwrotną transkrypcję, uzyskanie cDNA i jego amplifikację za pomocą techniki PCR (*polymerase chain reaction*).

Wydaje się, że technikę PCR można stosować do rutynowej diagnostyki wścieklizny. Jednakże, metoda ta wykorzystywana jest przede wszystkim jako narzędzie służące do typowania szczepów wirusa wścieklizny oraz do badań w zakresie epidemiologii molekularnej lyssavirusów [11, 28, 35, 36, 49].

W Polsce, w latach 1987–1997, zdiagnozowano 22395 przypadków wścieklizny. Z tego 4187 (18,7%) wystąpiło u zwierząt domowych, a 18208 (81,3%) u zwierząt wolno żyjących. Największe nasilenie wścieklizny zaobserwowano w roku 1992, kiedy to stwierdzono 3084 przypadki (tabl. 3).

Z analizy liczby przypadków wścieklizny u zwierząt domowych wynika, że główne zagrożenie dla człowieka stwarza kot, bowiem w okresie ostatniego dziesięciolecia

Tablica 3. Występowanie wścieklizny u poszczególnych gatunków zwierząt

Gatunek	Liczba przypadków u zwierząt domowych	Procent przypadków wścieklizny u zwierząt domowych danego gatunku w stosunku do liczby:	
		przypadków u wszystkich zwierząt domowych	wszystkich przypadków wścieklizny
Koń	24	0,57	0,1
Bydło	1 452	34,68	6,5
Kot	1 523	36,37	6,8
Królik	2	0,05	0,009
Owca	53	1,27	0,2
Pies	1 081	25,82	4,8
Świnia	7	0,17	0,03
Inne domowe	45	1,07	0,2
Gatunek	Liczba przypadków u zwierząt wolno żyjących	Procent przypadków wścieklizny u zwierząt wolno żyjących danego gatunku w stosunku do liczby:	
		przypadków u zwierząt wolno żyjących	wszystkich przypadków wścieklizny
Borsuk	177	20,97	0,8
Dzik	37	0,2	0,2
Jenot	1 465	8,05	6,5
Jeż	11	0,06	0,05
Łasica	15	0,08	0,07
Kuna	547	3,0	2,4
Lis rudy	15 087	82,9	67,4
Nietoperz	1	0,005	0,004
Piżmak	5	0,03	0,02
Sarna	665	3,7	3,0
Szczur	15	0,08	0,07
Tchórz	127	0,7	0,6
Wiewiórka	23	0,13	0,1
Wilk	3	0,02	0,01
Zając	13	0,07	0,06
Inne wolno żyjące	17	0,09	0,08

najwyższą liczbę zachorowań wśród zwierząt domowych zanotowano u osobników tego właśnie gatunku. Kot żyje w bardzo bliskim otoczeniu człowieka, a jego duża wrażliwość na zakażenie wirusem wścieklizny oraz sposób bytowania powodują, że może łatwo ulegać zakażeniu, sprowadzając tym samym potencjalne niebezpieczeństwo transmisji choroby na człowieka. Z tego też względu zaleca się uodpornianie kotów przeciwko wściekliznie, jak to jest czynione w stosunku do psa, gdzie istnieje obowiązek corocznego szczepienia przeciwko wściekliznie [49].

Drugim pod względem częstotliwości występowania wścieklizny gatunkiem jest bydło. Jednakże gatunek ten uważany jest za ślepe ogniwo w łańcuchu transmisji wścieklizny. Najczęściej bydło ulega zakażeniu w okresie pastwiskowym, kiedy kontakt ze zwierzętami wolno żyjącymi jest szczególnie łatwy. Również w przypadku bydła zalecane jest szczepienie przeciwko wściekliznie w okresie poprzedzającym wyjście na pastwisko.

Pies jest trzecim w kolejności gatunkiem ze względu na występowanie wścieklizny.



Ogromny wpływ na taki stan ma obowiązek corocznego szczepienia psów przeciwko wściekliznie. Warunkiem dalszego ograniczenia liczby przypadków tej choroby w populacji psów jest rzetelne wykonanie zabiegu szczepienia całej populacji tych zwierząt. Obserwuje się bowiem w kraju, że przyczyną ponad połowy szczepień u ludzi przeciwko wściekliznie są kontakty z psami (56%) i kotami (16,5%) [37, 48, 49].

Analiza liczby przypadków wścieklizny w Polsce u zwierząt wolno żyjących potwierdza tendencje zaobserwowane w innych krajach Europy. Głównym rezerwuarem wścieklizny w środowisku naturalnym w kraju jest lis rudy [9, 15, 48, 49]. Ograniczenie epizootii wścieklizny u lisa rudego poprzez ograniczenie gęstości populacji przeprowadzano wieloma metodami:

- systematyczne organizowanie odstrzału lisów,
- gazowanie lisich nor (tlenek węgla, cyjanowodór, fosforowodór, chloropikryna),
- wykładanie przynęt z trucizną (cyjanek potasu, strychnina, siarczan talu),
- sterylizacja hormonalna (dietylostilboestrol).

Zabiegi te były jednak drogie i mało skuteczne, bowiem populacja lisów odnawiała się szybko, osiągając w okresie 1,5–2 lat stan wyjściowy. Ponadto wykładanie trucizn było metodą mało selektywną i niehumanitarną [9].

W roku 1970 w USA wykazano, że lis może zostać skutecznie wyimmunizowany przeciwko wściekliznie drogą doustną [4]. W 1978 r. w Szwajcarii po raz pierwszy przeprowadzono próbne wykładanie szczepionki doustnej. Efektem było uwolnienie od wścieklizny terenu objętego akcją [38]. W 1983 r. rozpoczęto terenowe próby wykładania szczepionki w Niemczech. Zastosowano szczep SAD B19 opracowany w *Bundesforschungs Anstalt für Viruskrankheiten der Tiere* w Tybindze [9, 39, 48, 49].

W 1985 r. do programu zwalczania wścieklizny drogą doustnego uodparniania lisów włączyły się Włochy, Austria, Belgia, Francja, Luksemburg [3, 9, 39].

W Polsce, po licznych dyskusjach środowisk medycznych i weterynaryjnych zainteresowanych zagadnieniem wścieklizny oraz po konsultacjach z Centrami Referencyjnymi WHO ds. Wścieklizny, podjęto decyzję o wprowadzeniu w kraju doustnego uodparniania lisów przeciwko wściekliznie jako metody zwalczania tej choroby u zwierząt wolno żyjących. Do stosowania w Polsce dopuszczono szczep SAD B19 (szczepionka *Fuchsoral*). W momencie zapadania decyzji o wykładaniu szczepionki doustnej, szczepionka zawierająca szczep SAD B19 była zastosowana w Europie w liczbie 25 milionów dawek i posiadała najlepiej udokumentowaną w próbach terenowych efektywność i nieszkodliwość [31, 44, 48, 49].

Akcję wykładania szczepionki doustnej przeciwko wściekliznie dla zwierząt wolno żyjących rozpoczęto w Polsce w 1993 r. obejmując 6 województw Polski Zachodniej: szczecińskie, gorzowskie, zielonogórskie, legnickie, wałbrzyskie, jeleniogórskie. Ogółem w 1993 r. szczepionkę wyłożono dwukrotnie (wiosna, jesień) na obszarze 39 916 km<sup>2</sup>. W każdej kampanii wyłożono 700 tys. dawek szczepionki, co dawało wskaźnik 17,5 dawki na km<sup>2</sup>. W 1994 r. strefę wykładania szczepionki rozszerzono do 64 044 km<sup>2</sup>. Gęstość wykładania szczepionki wynosiła 15 dawek na km<sup>2</sup>. W 1995 i 1996 r. szczepionkę wykładano na obszarze ponad 80 000 km<sup>2</sup>, przy czym gęstość wynosiła 18 dawek na km<sup>2</sup>. W 1997 roku obszar objęty wykładaniem szczepionki doustnej dla lisów wyniósł ok. 130 tys. km<sup>2</sup>. Do wykładania szczepionki użyto samolotów AN-2, w których dokonano niezbędnych adaptacji.

Profilaktyka wścieklizny w ekosystemie to nie tylko wyłożenie szczepionki w terenie, ale także monitorowanie efektów akcji doustnego uodparniania lisów przeciwko wściekliznie, które obejmuje:

- określenie obecności tetracyklin w kości zuchwy – jest to marker przyjęcia szczepionki zawarty w przynęcie,
- określenie miana przeciwciał dla wirusa wścieklizny (RFFIT) – jest to potwierdzenie efektywności szczepionki (właściwości immunogennych szczepu SAD B19),
- różnicowanie szczepów wirusa wścieklizny izolowanych na obszarze wykładania szczepionki – wykluczenie, że szczep SAD B19 powoduje zakażenia,
- analizę sytuacji epizootiologicznej na terenie wykładania szczepionki – określenie efektywności akcji wykładania szczepionki.

Wskaźnik przyjęcia szczepionki w pierwszych trzech akcjach (wiosna i jesień 1993 r., wiosna 1994 r.) wynosił 78,3%, natomiast serokonwersję stwierdzono u 79,5% lisów dostarczonych do badania z terenów wyklada-

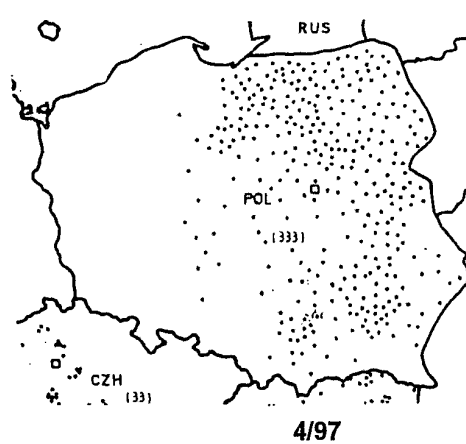
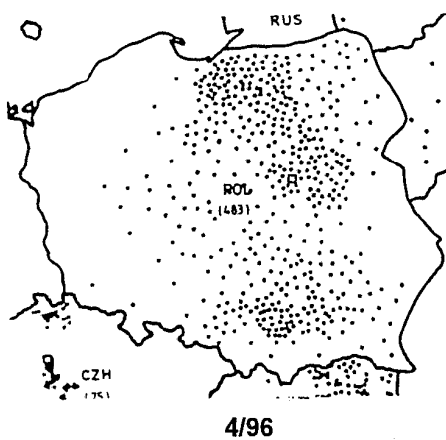
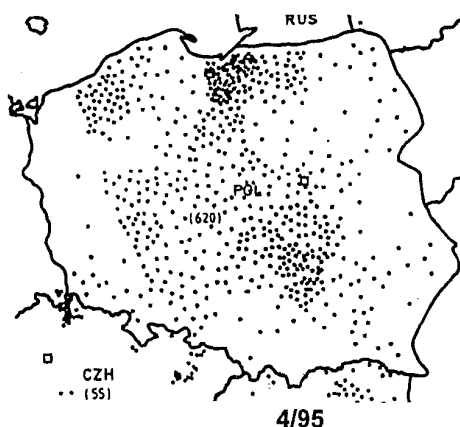
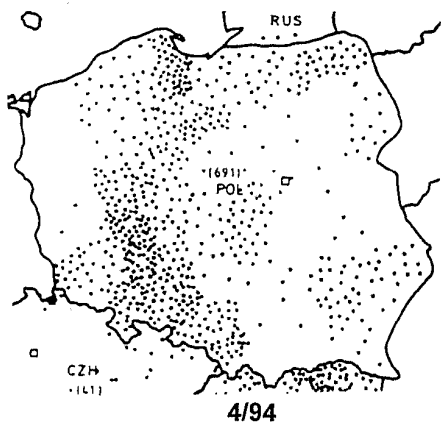
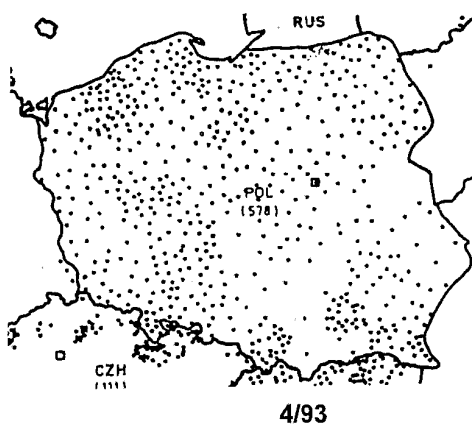
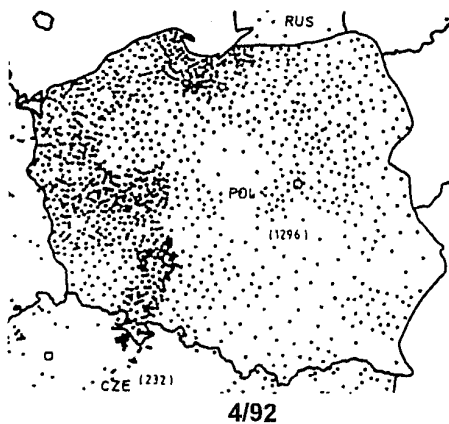
nia szczepionki. W akcji 4,5,6 (jesień 1994, wiosna i jesień 1995) wskaźnik przyjęcia szczepionki wahał się od 40% do 66% w zależności od województwa, a wskaźnik serokonwersji od 37% do 63%. Średnia geometryczna miana przeciwciał wynosiła 2,59 log. We wszystkich województwach, w których podjęto wykładanie szczepionki doustnej, zanotowano wysoce znamienne spadki liczby przypadków wścieklizny (tabl. 4).

Dotychczasowe wyniki wskazują na dobrą skuteczność akcji zwalczania wścieklizny poprzez doustne uodparnianie lisów wolno żyjących. Województwo szczecińskie wolne jest od wścieklizny od 8 czerwca 1994 r., kiedy to stwierdzono ostatni przypadek tej choroby. Dobre rezultaty uzyskały także następujące województwa: gorzowskie, zielonogórskie, legnickie, wałbrzyskie, jeleniogórskie, koszalińskie, gdańskie, poznańskie, wrocławskie, opolskie, bielskie (rys.)

Strategia zwalczania wścieklizny przewidywa na kolejne lata:

Tablica 4. Wyniki akcji zwalczania wścieklizny w wybranych województwach

Województwo	Liczba przypadków wścieklizny w wybranych województwach					
	1992	1993	1994	1995	1996	1997
Szczecińskie	149	144	10	0	0	0
Gorzowskie	150	110	13	1	1	4
Zielonogórskie	166	91	14	5	2	0
Jeleniogórskie	66	65	44	31	9	2
Legnickie	46	36	45	7	4	0
Wałbrzyskie	103	89	62	15	8	0
Koszalińskie		322	74	88	8	0
Słupskie		89	63	42	8	0
Piłskie		64	33	10	5	0
Gdańskie			168	123	4	3
Poznańskie			124	128	25	4
Leszczyńskie			63	90	10	0
Wrocławskie			142	98	20	1
Opolskie			162	80	20	4
Bielskie			96	22	2	6
Bydgoskie			86	101	36	7
Krośnieńskie				27	36	4
Nowosądeckie				4	15	8
Elbląskie					185	33



Rysunek. Postępy w zwalczaniu wścieklizny

- rozszerzenie obszaru wykładania szczepionki w kierunku wschodnim w miarę posiadanych środków finansowych,
- wykładanie szczepionki przez co najmniej 2 lata od ostatniego przypadku wścieklizny.

Z przedstawionych informacji widać, że w Polsce podejmowane są wielokierunkowe działania w celu ograniczenia rozprzestrzeniania wirusa wścieklizny w populacji zwierząt i odsunięcia możliwości transmisji do człowieka tego groźnego czynnika zakaźnego.

## PIŚMIENNICTWO

1. Allworth A., Murray K., Morgan J.A.: Human cases of encephalitis due to a lyssavirus recently identified in fruit bats. *Communicable Diseases Intelligence (Australia)* 1996, 20, 504.
2. Amengual B., Whitby J.E., King A., Serra Cobo J., Bourhy H.: Evolution of European bat lyssaviruses. *J. Gen. Virol.* 1997, 78, 2319.
3. Artois M., Masson E., Barrat J., Aubert M.F.A.: Efficacy of three oral rabies vaccine-baits in the red fox: a comparison. *Veterinary Microbiology* 1993, 38, 167.
4. Baer G.M., Broderson J.R., Yager P.A.: Determination of the site of oral rabies vaccination. *Am. J. Epidemiol.* 1975, 10, 160.
5. Bahloul Ch., Jacob Y., Tordo N., Perrin P.: DNA-based immunization for exploring the enlargement of immunological cross-reactivity against the lyssaviruses. *Vaccine* 1998, 16, 417.
6. Beran G.W.: Rabies and infections by rabies-related viruses. W: Beran W. (red.): *Handbook of Zoonoses, Section B: Viral*. CRC Press, 1994, 307–357.
7. Beynon P.H., Edney A.T.B.: Rabies in changing world. *Proceedings of a Joint Symposium, Royal Society of Medicine, London, 3rd May, 1995*.
8. Blancou J.: Early methods for the surveillance and control of rabies in animals. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 1994, 13, 361.
9. Blancou J., Aubert M.F.A., Artois M.: Fox rabies. W: Baer G.M. (red.): *Natural History of Rabies*. Wyd. 2. CRC Press, 1991, 258–285.
10. Bourhy H., Kissi B., Lafon M., Sacramento D., Tordo N.: Antigenic and molecular characterisation of bat virus in Europe. *J. Clin. Microbiol.* 1992, 30, 2419.
11. Bourhy H., Kissi B., Tordo N.: Molecular diversity of the Lyssavirus genus. *Virology* 1993, 194, 70.
12. Bourhy H., Sureau P., Tordo N.: From rabies to rabies-related viruses. *Vet. Microbiol.* 1990, 23, 115.
13. Bourhy H., Sureau P.: *Methodes de laboratoire pour le diagnostic de la rage*. Unite de la Rage, Institut Pasteur, 1990.
14. Bunn T.O.: Cat rabies, pp. 380–386, in *Natural History of rabies*. 2nd Edition. Edited by Baer G.M., CRC Press, 1991.
15. Chomel B.B.: The modern epidemiological aspects of rabies in the world. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 1993, 16, 11.
16. Chopra J.S., Banerjee A.K., Murthy M.K., Pal S.R.: Paralytic rabies a clinico-pathological study. *Brain* 1980, 103, 789.
17. Fekadu M.: Canine rabies. W: Baer G.M. (red.): *Natural History of Rabies*. Wyd. 2. CRC Press, 1991, 368–375.
18. Fields B.N.: *Virology*. Lippincott-Raven. Wyd. 3. 1996.
19. Fishbein D.B.: Rabies in humans. W: Baer G.M. (red.): *The Natural History of Rabies*. Wyd. 2. CRC Press, 1991, 520–547.
20. Flamand A., Wiktor T.J., Koprowski H.: Use of hybridoma monoclonal antibodies in the detection of antigenic differences between rabies and rabies-related virus protein. I. The nucleocapsid protein. *J. Gen. Virol.* 1980, 48, 97.
21. Fraser G.C., Hooper P.T., Lunt R.A. i wsp.: Encephalitis caused by a lyssavirus in fruit bats in Australia. *Emerging Inf. Dis.* 1996, 2, 327.
22. Fu Z.F.: Rabies and rabies research: past, present and future. *Vaccine* 1997, 15, 20.
23. Iwasaki Y., Clark H.F.: Rabies virus infection in mouse neuroblastoma cells. *Laboratory Investigation* 1997, 36, 578.
24. King A.A., Turner G.S.: Rabies: A Review. *J. Comp. Path.* 1993, 108, 1.
25. King A., Davies P., Lawrie A.: The rabies viruses of bats. *Vet. Microbiol.* 1990, 23, 165.
26. Kissi B., Tordo N., Bourhy H.: Genetic polymorphism in the rabies virus nucleoprotein gene. *Virology* 1995, 209, 526.
27. Lyssavirus Expert Group: Prevention of human lyssavirus infection. *Communicable Diseases Intelligence (Australia)* 1996, 20, 505.

28. Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski H.: Laboratory techniques in rabies. Wyd. 4. WHO, Geneva 1996.
29. Muller W.W.: New lyssavirus in fruit bats in Australia. *Rab. Bull. Europe* 1996, 20, 9.
30. Nathanson N.: *Viral Pathogenesis*, Lippincott-Raven, 1997.
31. Pastoret P.P., Brochier B., Thomas I., Blancou J.: Vaccination to control rabies in foxes. Brussels, 17–18 November, 1987.
32. Rabies suspected in a bat in Newhaven. *Vet. Rec.* 1996, 138, 578.
33. Rabies. Radcliffe Medical Press Ltd., 1995.
34. Rudd R. J., Trimarchi Ch. V.: Development and evaluation of in vitro virus isolation procedure as a replacement for the mouse inoculation test in rabies diagnosis. *J. Clin. Microbiol.* 1989, 27, 2522.
35. Sacramento D., Badrane H., Bourhy H., Tordo N.: Molecular epidemiology of rabies virus in France: comparison with vaccine strains. *J. Gen. Virol.* 1992, 73, 1149.
36. Sacramento D., Bourhy H., Tordo N.: PCR technique as an alternative method for diagnosis and molecular epidemiology of rabies virus. *Mol. Cel. Probes* 1991, 5, 229.
37. Seroka D.: Sytuacja epidemiologiczna wścieklizny w Polsce w latach 1991–1996. W: *Zakażenia wspólne dla ludzi i zwierząt. Materiały z Sesji Naukowej „70 lat Wydziału Weterynaryjnego”*. SGGW, Warszawa 1997.
38. Steck F., Wandeler A., Bichsel P., Capt S., Schneider L.: Oral immunization of Foxes against Rabies – A Field study. *Zbl. Vet. Med.* 1982, B29, 372.
39. Stohr K., Meslin F.X.: Progress and setbacks in the oral immunisation of foxes against rabies in Europe. *Vet. Rec.* 1996, 139, 32.
40. Tordo N., Bourhy H., Sacramento D.: PCR Technology for Lyssavirus Diagnosis. W: Clewley J.P. (red.): *The Polymerase Chain Reaction (PCR) for Human Viral Diagnosis*. CRC Press, 1995, 125–145.
41. Umoh J.U., Cox J.H., Schneider L.G.: Antigenic characterization of street rabies virus isolates from Nigeria using monoclonal antibodies. *J. Vet. Med.* 1990, 37, 222.
42. Vincent J., Bussereau F., Sureau P.: Immunological relationships antibodies to Mokola virus. *Ann. Inst. Pasteur/Virol.* 1989, 139, 157.
43. Wagner R.R.: *The Rhabdoviruses*. Plenum Press, 1987.
44. Whitby J.E., Johnstone P., Parsons G., King A.A., Huston A.M.: Ten-year survey of British bats for existents of rabies. *Vet. Rec.* 1996, 139, 491.
45. Who Expert Committee on Rabies Who Technical Report Series 824, Eight Report, Geneva 1992.
46. Wilkinson L.: Understanding the nature of Rabies: an historical perspective. W: Campbell J.B., Charlton K.M. (red.): *Rabies*. Kluwer Academic Publ., 1988, 1–23.
47. Zaidman G.W., Billingsley A.: Corneal Impression Test for the Diagnosis of Acute Rabies Encephalitis. *Ophthalmology* 1998, 105, 249.
48. Żmudziński J.F. Immunoprofilaktyka wścieklizny u zwierząt wolno żyjących. *Mikrobiol. Med.* 1996, 4, 46.
49. Żmudziński J.F., Smreczak M.: Wścieklizna – występowanie, diagnostyka, zwalczanie. W: *Zakażenia wspólne dla ludzi i zwierząt. Materiały z Sesji Naukowej „70 lat Wydziału Weterynaryjnego”*. SGGW, Warszawa 1997, 40–55.

*Adres: Dr Marcin Smreczak, Zakład Wirusologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy*