

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΛΟΙΜΩΔΩΝ  
ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΠΡΟΒΑΤΩΝ ΣΤΗ ΛΕΣΒΟ



ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ:

ΜΑΖΑΡΑΚΗ ΚΥΡΙΑΚΗ

ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ:

ΚΟΥΜΛΕΛΗ ΜΑΡΙΑ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2010

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|   |           |
|---|-----------|
| <b>A. Εισαγωγή.....</b>   | <b>1</b>  |
| A1. Κτηνοτροφία.....  | 1         |
| A2. Ο Νομός Λέσβου.....   | 2         |
| A3. Η Κτηνοτροφία της Λέσβου.....   | 2         |
| <br>  |           |
| <b>B. Μέρος 1<sup>ο</sup> .....</b>                                       | <b>5</b>  |
| B2. Καταρροϊκός Πυρετός ή Νόσος Blue Tongue.....                          | 5         |
| 1.1 Ορισμός.....  | 5         |
| 1.2 Ευπάθεια.....   | 5         |
| 1.3 Μορφολογία-Δομή-Σύσταση BTV.....                                      | 5         |
| 1.4 Γεωγραφική εξάπλωση-Επιπτώσεις .....                                  | 5         |
| 1.5 Αιτιολογία-Παθογένεια .....   | 6         |
| 1.6 Επιδημιολογία.....  | 7         |
| 1.7 Παθολογοανατομικές Αλλοιώσεις.....                                    | 9         |
| 1.8 Συμπτώματα .....  | 12        |
| 1.9 Τρόπος Μετάδοσης ΚΠΑ στα ευαίσθητα ζώα .....                          | 16        |
| 1.10 Διάγνωση ασθένειας .....   | 17        |
| 1.10.1 Κλινική διάγνωση .....   | 17        |
| 1.10.2 Εργαστηριακή διάγνωση .....  | 17        |
| 1.11 Ταυτοποίηση του BTV με κλασσικές μεθόδους .....                      | 19        |
| 1.11.1 Απομόνωση του ιού .....  | 19        |
| 1.11.2 Ταυτοποίηση της ορολογικής ομάδας .....                            | 21        |
| 1.11.3 Ταυτοποίηση ορότυπου .....   | 21        |
| 1.11.4 Ανίχνευση Αντισωμάτων .....  | 22        |
| A) Μέθοδοι ανίχνευσης των ειδικών της ορολογικής ομάδας αντισωμάτων ..... | 22        |
| 1) Δοκιμή της ανοσοδιάχυσης σε άγαρ .....                                 | 23        |
| 2) Δοκιμής της ανταγωνιστικής ELISA .....                                 | 23        |
| B) Μέθοδοι ανίχνευσης των ειδικών του ορότυπου αντισωμάτων .....          | 23        |
| 1) Διαφορική διάγνωση .....   | 23        |
| 1.11.5 Προφύλαξη .....  | 24        |
| 1.11.6 Εμβόλια κατά του ιού BTV .....                                     | 25        |
| 1.11.7 Η νόσος του καταρροϊκού πυρετού στην Ελλάδα .....                  | 28        |
| 1.11.8 Προεδρικό Διάταγμα .....   | 30        |
| 1.11.9 Στατιστικά Στοιχεία .....  | 39        |
| A) Επιζωοτία του 2008 .....   | 40        |
| B) Κλινικά Συμπτώματα .....   | 40        |
| Γ) Αποτελέσματα .....   | 40        |
| 1) Ορολογικές εξετάσεις .....   | 40        |
| 2) Ιολογικές εξετάσεις .....  | 41        |
| 3) Εντομολογικά στοιχεία .....  | 41        |
| 4) Αποτελέσματα .....   | 43        |
| <br>  |           |
| <b>Γ. Μέρος 2<sup>ο</sup> .....</b>                                       | <b>44</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| Γ1. Μελιταίος πυρετός αιγοπροβάτων .....  | 44        |
| 1.1 Ορισμός .....   | 44        |
| 1.2 Αιτιολογία .....  | 45        |
| 1.3 Μόλυνση στα παραγωγικά ζώα .....  | 46        |
| 1.4 Γεωγραφική εξάπλωση .....   | 48        |
| 1.5 Ανθεκτικότητα της <i>B.melitensis</i> στο περιβάλλον .....                                | 49        |
| 1.6 Ευπάθεια .....  | 49        |
| 1.6.1 Ηλικία .....  | 49        |
| 1.6.2 Παθολογία .....   | 50        |
| 1.7 Εργαστηριακή διάγνωση Βρουκέλλωσης των μικρών μηρυκαστικών – Ερμηνεία αποτελεσμάτων ..... | 51        |
| 1.7.1 Άμεση διάγνωση .....  | 52        |
| 1.7.2 Βακτηριολογική εξέταση .....  | 53        |
| 1.7.3 Άλλες μέθοδοι για ανίχνευση του μολυσματικού παράγοντα .....                            | 55        |
| 1.7.4 Έμμεση διάγνωση .....   | 56        |
| 1.7.5 Ορολογικές δοκιμές .....  | 57        |
| Α) Δοκιμή Ερυθρού της Βεγγάλης .....  | 57        |
| Β) Δοκιμή σύνδεσης του συμπληρώματος .....  | 59        |
| 1.7.6 Ανοσοενζυμικές μέθοδοι .....  | 61        |
| Α) Δοκιμή πόλωσης φθορίζοντος του φωτός .....   | 62        |
| 1.7.7 Διασταυρούμενες αντιδράσεις στις ορολογικές δοκιμές .....                               | 63        |
| 1.7.8 Δοκιμές που βασίζονται στην κυτταρική ανοσία .....                                      | 64        |
| 1.8 Πρόγραμμα ελέγχου εκκρίωσης Βρουκέλλας στα μικρά μηρυκαστικά .....                        | 64        |
| 1.9 Εμβόλια και εμβολιασμός .....   | 80        |
| Α) Εμβόλια .....  | 81        |
| 1) Εμβόλιο <i>B.melitensis</i> REV 1 .....  | 81        |
| Β) Άλλα διαθέσιμα εμβόλια .....   | 83        |
| 1) Εμβόλιο <i>B.melitensis</i> M111 .....   | 83        |
| 2) Εμβόλιο <i>B.melitensis</i> VTRM1 .....  | 83        |
| Γ) Εμβολιασμός .....  | 84        |
| 1) Υποδόριος εμβολιασμός με REV 1 .....   | 84        |
| a) Σε νεαρά ζώα .....   | 84        |
| b) Σε ενήλικα ζώα .....   | 85        |
| 2) Οφθαλμικός Εμβολιασμός με REV1 .....   | 86        |
| a) Σε νεαρά ζώα .....   | 86        |
| b) Σε ενήλικα ζώα.....  | 87        |
| 1.10 Σχέση με την δημόσια υγεία .....   | 89        |
| Α) Πρόληψη .....  | 90        |
| 1.11 Στατιστικά στοιχεία .....  | 92        |
| <br>  |           |
| <b>Δ. Συμπεράσματα .....</b>  | <b>95</b> |
| Καταρροϊκός πυρετός .....   | 95        |
| Μελιταίος πυρετός .....   | 95        |
| Βιβλιογραφία .....  | 96        |

## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΑ**

Ο πρωτογενής τομέας και ειδικότερα η γεωργία είχε και εξακολουθεί να έχει σημαντική θέση ως τομέας οικονομικής δραστηριότητας και παράγοντας διατήρησης της κοινωνικής και οικονομικής συνοχής μεγάλων περιοχών της ελληνικής επικράτειας.

Ο γεωργικός τομέας κατέχει δεσπόζουσα θέση στο νησιωτικό χώρο του Αιγαίου και συχνά χρησιμοποιείται ως κύριος μοχλός ανάπτυξης του, δεδομένου ότι τα νησιά του Αιγαίου περιλαμβάνονται μεταξύ των λιγότερο ανεπτυγμένων περιφερειών της Ελλάδας αλλά και της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Η οικονομική περιθωριοποίηση οφείλεται κατά βάση στην αδυναμία των νησιών να ανταγωνιστούν τις οικονομίες των ηπειρωτικών περιοχών, λόγω της γεωγραφικής θέσης, της απόστασης από το κέντρο, της μορφολογίας του εδάφους, των κλιματολογικών συνθηκών κτλ.

## **Ο ΝΟΜΟΣ ΛΕΣΒΟΥ**

Φυσικά χαρακτηριστικά: Στο χώρο του ΒΑ Αιγαίου βρίσκεται η Λέσβος, η οποία μαζί με την Λήμνο και τον Άγιο Ευστράτιο αποτελούν τον νομό Λέσβου, όπου εδαφικά και πληθυσμιακά κυριαρχεί η Λέσβος. Η συνολική έκταση του νομού είναι 2.154.000 στρ. ποσοστό 78% της οποίας είναι γεωργική έκταση. Αναλυτικά οι χρήσεις γης στον νομό είναι: καλλιεργούμενη έκταση 37,4%, βοσκότοποι 40,7%, (εκ των οποίων 83,6% ιδιωτικοί και 16,4% κοινοτικοί), δάση 15,3%, εκτάσεις με νερά 1,5%, δομημένες εκτάσεις 3,5% και λοιπές εκτάσεις 1,6%. Η καλλιεργούμενη έκταση καλύπτεται κατά 55% από ελαιώνες, 31% από αροτριάιες καλλιέργειες, 2% από αμπέλια, 4% από οπωρώνες, 2% από κηπευτικά, 5% από αγραναπαύσεις και 1% από κοφτολίβαδα.

Είναι η 3<sup>η</sup> περιοχή της χώρας στην παραγωγή λαδιού με 8% της συνολικής παραγωγής το 1999 και 9<sup>η</sup> στην παραγωγή τυριού με 3% στο σύνολο. Το πρόβειο γάλα και το κρέας συμβάλλουν σε ποσοστό περίπου 30% στο συνολικό ακαθάριστο γεωργικό εισόδημα του νομού.

## **Η ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΑ ΤΗΣ ΛΕΣΒΟΥ**

Η αναφορά στην κτηνοτροφία της Λέσβου καθορίζεται από την προβατοτροφία, καθόσον οι άλλοι κλάδοι ( βοοτροφία, αιγοτροφία, χοιροτροφία, πτηνοτροφία) συμμετέχουν σημαντικά λιγότερο, τόσο στο ακαθάριστο γεωργικό εισόδημα όσο και από την άποψη αριθμού των εκτρέφόμενων κεφαλών, έναντι της προβατοτροφίας. Συγκεκριμένα στο νομό Λέσβου εκτρέφονταν το έτος 2008 :7.000 βοοειδή, 350.000 πρόβατα, 38.000 αίγες, 3.000 ιπποειδή, 350.000 ορνιθοειδή και 600 κεφαλές χοιρινών σε 5.000 περίπου εκμεταλλεύσεις. Η συμβολή της προβατοτροφίας στο γεωργικό σύστημα είναι μεγάλη επειδή:

1. Αξιοποιεί με τον καλύτερο τρόπο τις φτωχές σε βλάστηση βοσκές, τις αγραναπαύσεις, τις εκτάσεις που είναι ακατάλληλες για καλλιέργεια, τα υπολείμματα των αγρών καθώς και την αυτοφυή βλάστηση κάτω από τους δενδρώνες.

2. Δίνει τον μεγαλύτερο όγκο του καταναλισκόμενου ερυθρού κρέατος και των γαλακτοκομικών προϊόντων στο νησί.
3. Δίνει εργασία σε μια κατηγορία ανθρώπων οι οποίοι είναι δύσκολο να εργαστούν σε άλλους τομείς και συγχρόνως αποφεύγεται η ερήμωση της υπαίθρου.

Τα εκτρεφόμενα πρόβατα ανήκουν στην φυλή Λέσβου με αξιόλογο γενετικό δυναμικό. Οι πλέον ομοιογενές εκτροφές βρίσκονται στο Δυτικό, Νοτιοδυτικό και Βορειοδυτικό τμήμα του νησιού. Εκτός όμως από την Λεσβιακή φυλή εκτρέφεται και μικρός αριθμός προβάτων που ανήκουν σε άλλες φυλές ( Καραμάνικα, διασταυρωμένα Λεσβιακά με Φριςλανδικά και Χίου).

Το Λεσβιακό πρόβατο θεωρείται χαρισματικό πρόβατο διότι προσαρμοσμένο στις ξηροθερμικές συνθήκες του νησιού, εμφανίζει υψηλές αποδόσεις και εκτρέφεται σε δύσκολες εδαφοκλιματικές συνθήκες σε ποιμενική μορφή. Είναι ζώο μικτών αποδόσεων, κυρίως όμως είναι γαλακτοπαραγωγό. Κατά μέσο όρο κάθε πρόβατο παράγει 150 κιλά γάλα ανά κεφαλή (σε επιλεγμένα ποιμνία η γαλακτοπαραγωγή ξεπερνά τα 200 κιλά ανά ζώο) και με μέση πολυδυμία 1,2, έχει παραγωγή κρέατος 10 κιλά/πρόβατο/έτος. Η παραγωγή γάλακτος και κρέατος είναι συνάρτηση των γενετικών χαρακτηριστικών των ζώων, της διατροφής, της προληπτικής κτηνιατρικής υγιεινής και των συνθηκών σταβλισμού.

Συμπερασματικά μπορούμε να συνοψίσουμε ότι η προβατοτροφία για το νησί της Λέσβου αποτελεί αξιόλογη οικονομική δραστηριότητα με δυνατότητες περαιτέρω ανάπτυξης. Είναι όμως απαραίτητο να υπάρξουν:

1. Συστηματική ενημέρωση και καθοδήγηση των κτηνοτρόφων. Αλλαγή νοοτροπίας , να δέχονται συμβουλές από το τεχνικό προσωπικό ούτως ώστε να διευρύνουν το επαγγελματικό τους επίπεδο.
2. Ορθή διαχείριση των βοσκοτόπων και σωστή διατροφή των ζώων ώστε να περιοριστεί η οικονομική επιβάρυνση από την κατανάλωση πολλών συμπληρωματικών ζωοτροφών που αυξάνουν το κόστος παραγωγής.

3. Αλλαγή στην νοοτροπία των κτηνοτρόφων η οποία βασίζεται στο σκεπτικό ότι μόνο με την αύξηση του αριθμού των ζώων αυξάνεται το εισόδημα τους που θα τους επιτρέψει να επιβιώσουν. Η βελτίωση του εισοδήματος θα προέλθει μόνο από την αύξηση των αποδόσεων και της ποιότητας.
4. Οργάνωση της διάθεσης των παραγόμενων προϊόντων με έμφαση στην ποιότητα και συλλογική αντιμετώπιση των προβλημάτων.

## ΜΕΡΟΣ1<sup>0</sup>

### ΚΑΤΑΡΡΟΙΚΟΣ ΠΥΡΕΤΟΣ Ή ΝΟΣΟΣ BLUE TONGUE

#### ΟΡΙΣΜΟΣ

Είναι ιογενής λοιμώδης νόσος των μηρυκαστικών, ιδιαίτερα του προβάτου, που μεταδίδεται με έντομα του γένους Culicoides. Κλινικά εκδηλώνεται με πυρετό, ανορεξία, σιαλόρροια, ρινικό έκκριμα και ανατομικά με οίδημα του προσώπου και με υπεραιμία και ορισμένες φορές με κύανωση του στοματικού βλεννογόνου και της γλώσσας (bluetongue).

#### ΕΥΠΑΘΕΙΑ

Τα πρόβατα κάθε ηλικίας είναι πολύ ευπαθή. Τα βοοειδή, οι αίγες και τα άγρια μηρυκαστικά παρουσιάζουν ελαφρά συμπτώματα γι αυτό είναι δυνατόν να δρουν ως ασυμπτωματικοί φορείς του ιού.

#### ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ – ΔΟΜΗ – ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΒΤΥ

Το ιικό σωματίδιο είναι σφαιρικό με διάμετρο 85 nm. Όπως συμβαίνει σε όλους τους ιούς της οικογένειας Reoviridae έχει χαρακτηριστική δομή. Συγκεκριμένα, στερείται περιβλήματος ενώ το καψίδιο του αποτελείται από 2 ομόκεντρες πρωτεϊνικές στοιβάδες που περικλείουν τα 10 τμήματα του γενώματος.

#### ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ - ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ

Ο καταρροικός πυρετός περιγράφηκε για πρώτη φορά στη Νότια Αφρική το 1905. Έκτοτε συναντιέται και με μεγάλη σχετικά συχνότητα στη Νότια, Δυτική και Ανατολική Αφρική. Επίσης, αλλά λιγότερο συχνά, στη Βόρεια, την Κεντρική και στη Νότια Αμερική ( στις βόρειες και ανατολικές περιοχές της ), την Ινδία, την Ιαπωνία, την Αυστραλία και σε ορισμένες χώρες της Μέσης Ανατολής και της Νότιας Ευρώπης. Συγκεκριμένα, στην Τουρκία διαπιστώθηκε το 1942, στην Κύπρο το 1943, το Ισραήλ το 1951, στην Αίγυπτο το



1951, την Ιορδανία το 1960, τη Συρία το 1966, ενώ στην Πορτογαλία το 1956, την Ισπανία το 1979 και την Ελλάδα το 1979 (Λέσβος), και το 1999 (Θράκη) με την είσοδο μολυσμένων προβάτων από την Βουλγαρία. Επομένως, για την Ελλάδα η εν λόγω νόσος δεν παύει να αποτελεί μια σοβαρή μελλοντική απειλή.

Οι δυσμενείς οικονομικές επιπτώσεις απορρέουν από τις μακροχρόνιες επιπτώσεις στην υγεία των μολυσμένων προβάτων, και ιδίως των αρνιών. Επίσης, από τους τυχόν θανάτους των ζώων και της διαμαρτίες διάπλασης των εμβρύων, όταν τα ζώα που προσβάλλονται βρίσκονται σε κατάσταση εγκυμοσύνης. Ο καταρροϊκός πυρετός δεν προσβάλλει τον άνθρωπο.

### **ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ-ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ**

Η μόλυνση οφείλεται σε RNA-ιό της οικογένειας Reoviridae του γένους Orbivirus ο οποίος μεταδίδεται με αρθρόποδα αιματοφάγα κουνούπια του γένους Culicoides. Το όνομα Orbivirus προέκυψε από την λατινική λέξη Orbis , που σημαίνει δακτύλιος ή κύκλος και περιγράφει τα μεγάλα δακτυλιοειδή καυομερίδια που είναι ορατά με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο στην επιφάνεια του χρωματισμένου με αρνητική χρώση εσωτερικού καψιδίου τους(πυρήνας).

Υπάρχουν τουλάχιστον 24 ορότυποι του ιού. Ο ιός αδρανοποιείται σε θερμοκρασίες 50oC για 3 ώρες ή στους 60C για 15 λεπτά. Με τη βοήθεια των αντιδράσεων της ανοσοδιάχυσης σε άγαρ και της σύνδεσης του συμπληρώματος ανιχνεύεται ένα κοινό αντιγόνο. Η οροεξουδετέρωση είναι ειδική για κάθε ορότυπο. Έχει διαπιστωθεί ότι ο ορότυπος 4 είναι υπεύθυνος για την νόσο στην Κύπρο και την Λέσβο. Στην Κύπρο βρέθηκαν αντισώματα έναντι των ορότυπων 3, 10, 12, ενώ στο Ισραήλ έναντι των ορότυπων 4, 10, 12, 16 και στην Αίγυπτο έναντι των ορότυπων 1, 4, 10, 12, 16. Ο ιός καλλιεργείται σε εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας με ενδοφλέβια ή ενδολεκτιτική έγχυση, καθώς και σε κύτταρα νεφρών νεογνού χρυσικρικητού. Επίσης, είναι αρκετά ανθεκτικός σε συνθήκες εξωτερικού περιβάλλοντος και

αντέχει επί πολλούς μήνες μέσα σε αίμα, στο οποίο προστέθηκε διάλυμα OCG ( Oxalate-Carbohic acid-Glycerine ).

Η μετάδοση του ιού γίνεται μέσω νυγμάτων δίπτερων εντόμων του γένους *Culicoides* και όχι με την επαφή, Στις ΗΠΑ είναι το *Cylicoides varipennis*, var.*sonorensis*. Επειδή τα έντομα-μεταδότες βρίσκονται σε έντονη βιολογική δραστηριότητα τη θερμή εποχή και ιδίως στις αρχές του φθινοπώρου στις εύκρατες χώρες, η νόσος εμφανίζεται αυτήν την εποχή. Ο ιός εισέρχεται στο αίμα (ιαιμία) και τελικά εντοπίζεται στο επιθήλιο του στόματος αλλά και σε άλλα επιθήλια. Πρέπει να σημειωθεί ότι η ιαιμία στα πρόβατα είναι σύντομη, ενώ στις αίγες και τα βοοειδή διαρκεί τουλάχιστον 1-2 μήνες και γι αυτό πιστεύεται ότι τα ζώα αυτά αποτελούν την αποθήκη του ιού. Επίσης, ο ιός προκαλεί διαμαρτίες διάπλασης των εμβρύων, επειδή έχει έμβryo-τροπισμό.

## **ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ**

Η νόσος έχει παγκόσμια εξάπλωση σε γεωγραφικές περιοχές μεταξύ 40° N (βόρεια) και 35° (νότια) όπου οι κλιματολογικές συνθήκες και το περιβάλλον ευνοούν τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση του ξενιστή. Το 1944, στην Νότια Αφρική ο ερευνητής ο Du Toit, απέδειξε ότι ο ξενιστής είναι είδος του γένους *Culicoides imicola*. Ο κύριος ξενιστής γνωστός στην λεκάνη της Μεσογείου είναι το *Culicoides imicola*. Είδη του γένους *Culicoides obsoletus* έχουν ενοχοποιηθεί ότι έπαιξαν πρωταρχικό ρόλο στην μετάδοση του ιού του καταρροϊκού πυρετού στην Κύπρο το 1997, στην Βουλγαρία το 1999, και στην Ιταλία το 2002. Είδη του γένους *Culicoides pulicaris* ήτανε οι κύριοι ξενιστές στην επιζωοτία του 2002 στην Σικελία. Στην περιοχή της Μεσογείου η νόσος αναφέρθηκε πρώτα στην Κύπρο και το Ισραήλ το 1943, αλλά θεωρείται ότι προϋπήρχε στην περιοχή αυτήν από το 1924. Έξι ορότυποι -2, -4, -6, -10, και -16 έχουν ταυτοποιηθεί στην περιοχή της Μεσογείου σε διάφορα διαστήματα. Στην Τουρκία, Συρία, Ισραήλ, και Αίγυπτο ο ΚΠ ενδημεί και έτσι αυτές οι περιοχές θεωρούνται ότι αποτελούν την πηγή μετάδοσης του ιού προς τα δυτικά. Η πιο καταστροφική επιζωοτία

στην λεκάνη της Μεσογείου ήταν αυτή που συνέβη στην Ισπανία και Πορτογαλία όταν ο ορότυπος -10 του ιού του καταρροϊκού πυρετού προκάλεσε τον θάνατο 179,000 προβάτων μεταξύ 1956 – 1960.

Στην Ελλάδα, το 1979 σε μια επιζωοτία όπου εξαπλώθηκε στα νησιά της Ρόδου και Λέσβου εμπλεκόταν ο ορότυπος -4 του ιού του καταρροϊκού πυρετού. Η Ελλάδα ανακηρύχθηκε ελεύθερη από τον ιό του ΚΠ το 1991 αλλά τον Οκτώβριο του 1998 νέα επιζωοτία αναφέρθηκε στα νησιά Ρόδος, Κως και Λέρος οφειλόμενη στον ορότυπο -9. Από το καλοκαίρι του 1999, η μόλυνση εξαπλώθηκε στο λεκανοπέδιο της Μεσογείου στο Ισραήλ, Τουρκία, Ελλάδα, Κύπρο, Βουλγαρία, Αλβανία, Βοσνία-Ερζεγοβίνη, Δημοκρατία της Σερβίας, Κροατία, Ιταλία, Γαλλικές νήσοι της Κορσικής, Τυνησία, Αλγερία, Ισπανία και Μαρόκο με τους ακόλουθους ορότυπους να εμπλέκονται: -1, -2, -4, -9, -16.

2

**Κατανομή των οροτύπων του Καταρροϊκού πυρετού στην Ελλάδα από 1979 έως 2001**

| ΝΟΜΟΙ      | 1979      |           | 1998      |           | 1999       |           | 2000       |            | 2001      |           |
|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|------------|-----------|-----------|
|            | Απομόνωση | Ορολογικά | Απομόνωση | Ορολογικά | Απομόνωση  | Ορολογικά | Απομόνωση  | Ορολογικά  | Απομόνωση | Ορολογικά |
| ΔΩΔΕΚΑΝΗΣΑ |           |           | BTV 9     |           | BTV 4 , 16 |           |            | BTV 16 , 9 | BTV 1     |           |
| ΣΑΜΟΣ      |           |           |           |           |            |           |            | BTV 16 , 4 |           |           |
| ΧΙΟΣ       |           |           |           |           | BTV 4      |           |            |            |           |           |
| ΛΕΣΒΟΣ     | BTV 4     |           |           |           | BTV 4      | BTV 4 , 9 | BTV 16 , 4 |            | BTV 1     |           |
| ΕΒΡΟΣ      |           |           |           |           | BTV 4      |           |            | BTV 4      |           |           |
| ΡΟΔΟΠΗ     |           |           |           |           | BTV 4      | BTV 9     |            | BTV 9      |           |           |
| ΔΡΑΜΑ      |           |           |           |           |            |           |            | BTV 9      |           |           |
| ΚΑΒΑΛΑ     |           |           |           |           |            |           |            | BTV 4      |           |           |
| ΣΕΡΡΕΣ     |           |           |           |           |            |           |            | BTV 9      |           |           |
| ΧΑΛΚΙΔΙΚΗ  |           |           |           |           | BTV 9 , 16 | BTV 9     |            |            |           |           |
| ΠΙΕΡΙΑ     |           |           |           |           | BTV 4      |           |            |            |           |           |
| ΓΡΕΒΕΝΑ    |           |           |           |           |            |           |            |            | BTV 1     | BTV 4 , 9 |
| ΚΑΣΤΟΡΙΑ   |           |           |           |           |            |           |            |            |           | BTV 4 , 9 |
| ΙΩΑΝΝΙΝΑ   |           |           |           |           |            |           |            |            | BTV 1     | BTV 4 , 9 |
| ΘΕΣΣΑΛΙΑ   |           |           |           |           |            |           |            |            | BTV 1     |           |
| ΑΡΤΑ       |           |           |           |           |            |           | BTV 4      |            |           |           |
| ΛΑΡΙΣΑ     |           |           |           |           | BTV 9      | BTV 9     |            |            |           |           |
| ΜΑΓΝΗΣΙΑ   |           |           |           |           | BTV 4      |           |            | BTV 4      |           |           |
| ΕΥΒΟΙΑ     |           |           |           |           | BTV 4      | BTV 9     |            |            |           |           |

Πηγή: ΤΜΗΜΑ ΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΚΕΝΤΡΟ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΩΝ ΑΘΗΝΩΝ

## ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ

Μετά από τα νύγματα των μολυσμένων κουνουπιών τα πρόβατα, μέσα σε 5 έως 10 ημέρες εμφανίζουν κατά χρονολογική σειρά, δύσπνοια, συμφόρηση του ακρορινίου των χειλέων και της γλώσσας, των πτερυγίων των αυτιών, υψηλό πυρετό (42<sup>0</sup>C), κατήφεια καθώς και φλεγμονή με σιαλόρροια. Στην συνέχεια παρατηρούνται εξέλκωση και, διάβρωση και νέκρωση του βλεννογόνου του στόματος ενώ η γλώσσα διογκώνεται και γίνεται μελανόχρωμη. Επίσης είναι δυνατόν να παρατηρούνται χολότητα, η οποία οφείλεται σε ενδοθυρίτιδα ή ποδοδερματίτιδα ή και μυΐτιδα, καθώς και αποβολές, πνευμονία εξεπιλοκής, απίσχναση και θάνατοι μέσα σε 8-10 ημέρες, σε ποσοστό συνήθως μέχρι 10%.

Τα έγκυα πρόβατα αποβάλλουν ή γεννούν νεογνά με δυσπλασίες, ιδίως όταν εμφανίζουν τη νόσο με λανθάνουσα μορφή. Στα νεογέννητα με συγγενείς διαμαρτίες διάπλασης του ΚΝΣ παρατηρούνται υδρανεγκεφαλία, πορεγκεφαλία, αγναθία, αρθρογρύπωση, δυσπλασία της παρεγκεφαλίδας, ατροφία των παρεγκεφαλιδικών λοβών, απουσία λευκής ουσίας στο νωτιαίο μυελό και παραμορφώσεις του σκελετού.

Στις αίγες οι αλλοιώσεις είναι ίδιες με εκείνες των προβάτων και αφορούν κυρίως το δέρμα, το στόμα, το μαστό και τα άκρα.

Η ανάρρωση, όταν συμβαίνει, είναι μακράς διάρκειας και συνοδεύεται από αλωπεκία, στειρότητα και μεγάλη καθυστέρηση στην αποκατάσταση της πλήρους υγείας των ζώων.

Στην μακροσκοπική νεκροτομική εξέταση οι σημαντικές αλλοιώσεις διαπιστώνονται στο στόμα, την μεγάλη κοιλία, το μυοκάρδιο, τους μύες, το δέρμα και στα πόδια. Ο βλεννογόνος του στόματος παρουσιάζει διαβρώσεις με βαθιές ερυθρωπές εστίες και οίδημα στην γλώσσα, τα χείλη, τα ούλα και στην σκληρή υπερώα. Ο πρόσθιος στύλος και η οισοφαγική αύλακα της μεγάλης κοιλίας παρουσιάζουν κοκκινο-σκοτεινόχρωμες εστίες, όπου το επιθήλιο εμφανίζεται διογκωμένο και οίδηματικό. Στο μυοκάρδιο και τους μεγάλους σκελετικούς μύες είναι δυνατόν να παρατηρούνται αιμορραγίες με την μορφή πετεχειών και εκχυμώσεων, καθώς και λευκωπές εστίες με νέκρωση. Το δέρμα των κανόνων των άκρων, εφόσον είναι

λευκό, μετά την απόσπαση των τριχών του, αποκαλύπτεται να είναι κοκκινωπό και μάλιστα πιο πολύ προς την μεριά των χηλών και πιο λίγο προς την μεριά των ταρσών και των καρπών.

Στην μικροσκοπική ιστολογική εξέταση παρατηρούνται υπεραιμία και αιμορραγία γύρω από τα αιμοφόρα αγγεία, αρτηρίτιδα με υπερπλασία και εκφύλιση των ενδοθηλιακών κυττάρων, διήθηση από λεμφοκύτταρα και πολυμορφοπύρηννα λευκοκύτταρα, κυρίως στο βλεννογόνο του στόματος, τον εγκέφαλο και στον πλακούντα. Επίσης, εκφύλιση αιμορραγίες και νεκρώσεις στο μυοκάρδιο και στους σκελετικούς μύες.



**Αλλοιώσεις στο στόμα προβάτου**



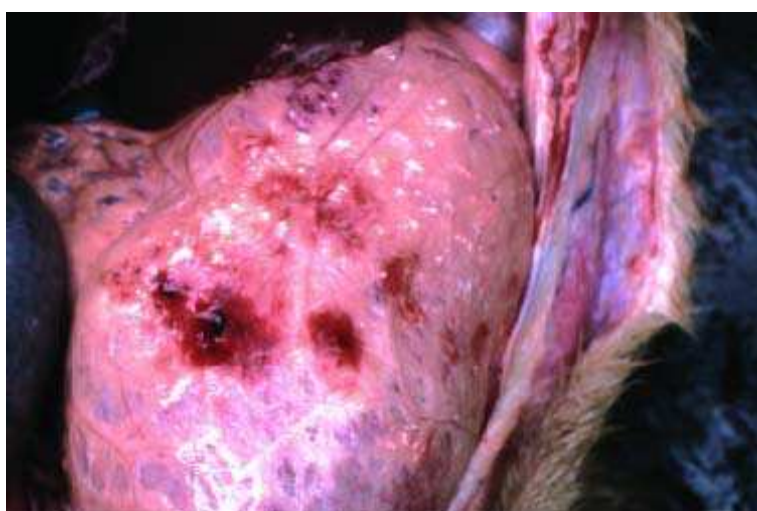
**Αλλοιώσεις πίσω από τους τομείς οδόντες προβάτου.**



**Αλλοιώσεις στο στοματικό βλεννογόνο προβάτου .**



**Αλλοιώσεις στην οίδηματική γλώσσα προβάτου**



**Αιμορραγίες των στομάχων**



## **Αιμορραγίες στη βάση της πνευμονικής αρτηρίας-Παθολογική αλλοίωση**

### **ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ**

Η νόσος παρουσιάζει συμπτώματα μόνο στα πρόβατα, ενώ στις αίγες, τα βοοειδή και στα άγρια μηρυκαστικά (με εξαίρεση το ελάφι), που μπορεί να είναι φορείς, είναι ασυμπτωματική.

Τα συμπτώματα εκδηλώνονται μετά από περίοδο επώασης 7–14 ημερών και χαρακτηρίζονται από υπεραιμία, οιδήματα και αιμορραγίες, λόγω της εκτεταμένης βλάβης του ενδοθηλίου των μικρών αγγείων. Σε πρόβατα που μολύνονται για πρώτη φορά παρατηρείται η οξεία μορφή της νόσου, η οποία εκδηλώνεται με υψηλό πυρετό, υπεραιμία του στοματικού και ρινικού βλεννογόνου που συνοδεύεται από υπερέκκριση σιέλου, αφρούς στο στόμα και ρινικό έκκριμα, υπεραιμία στο δέρμα του ακρορινίου και των χειλέων, οίδημα στα χείλη, τη γλώσσα και το ακρορρίνιο ή σε ολόκληρο το πρόσωπο, την υπογνάθια χώρα, τα αυτιά και τους μαστούς και τέλος διαβρώσεις και έλκη στο στοματικό βλεννογόνο. Σε πολύ βαριές καταστάσεις παρατηρείται κυανός χρωματισμός της γλώσσας, επιπεφυκίτιδα με έντονη δακρύρροια, πνευμονία με πνευμονικό οίδημα, διάρροια, δυσκαμψία, χολότητα, υπεραιμία και συμφόρηση της στεφανιαίας αύλακας της χηλής ( ποδοδερματίτιδα ), και τριχόπτωση ή αλωπεκία.

Στα πρόβατα η ήπια μορφή, καθώς και η ασυμπτωματική παρατηρούνται στις ενζωτικές περιοχές. (Πίνακας 1, 2, 3).

## Ηπια κλινικά συμπτώματα



Απάθεια, Καταστολή πυρετός και αρχή επιπεφυκίτιδας



Υπεραιμία στοματικού βλενογόνου και ακρορρινίου



Υπεραιμία ρινικού βλεννογόνου , οίδημα κεφαλής  
Ευγενικά παραχωρήθηκαν από Κοινοτικό Εργαστήριο Αναφοράς .  
( P.Mertens )



## Μέτρια κλινικά συμπτώματα



Επιπεφυκίτιδα , Δακρύρροια.



Υπεραιμία και φλεγμονή ρινικού βλεννογόνου , βλενοπυώδες ρινικό έκκριμα , οίδημα κεφαλής .



Φλεγμονή της στεφάνης της χηλής

Ευγενικά παραχωρήθηκαν από Κοινοτικό Εργαστήριο Αναφοράς .  
( P.Mertens )

## Εντονα κλινικά συμπτώματα



Εντονη σιελόρροια , αναπνευστική ανεπάρκεια



Δύσπνοια , ασφυξία , κυανωτική γλώσσα



Οιδηματική γλώσσα , οίδημα προσώπου και φλεγμονή της στεφάνης της χηλής.

Ευγενικά παραχωρήθηκαν από Κοινοτικό Εργαστήριο Αναφοράς .  
( P.Mertens )

## ΤΡΟΠΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΟΥ ΚΠΑ ΣΤΑ ΕΥΑΙΣΘΗΤΑ ΖΩΑ

Για την μετάδοση του ιού από το ένα ζώο στο άλλο, απαραίτητο είναι να έχει προηγηθεί τσίμπημα από ένα έντομο ή «φορέα». Πρόκειται ουσιαστικά για ένα μικρό έντομο του είδους *Culicoides* που περιλαμβάνει περισσότερα από 1 250 είδη γνωστά παγκοσμίως.

Το θηλυκό έντομο μπορεί να ρουφήξει τον ιό τσιμπώντας ένα άρρωστο ζώο. Ο ιός αναπτύσσεται μέσα στους σιελογόνους αδένες του εντόμου και μπορεί να μεταδοθεί σε άλλο ευαίσθητο ζώο με το επόμενο τσίμπημα.

Το έντομο που ευθύνεται για την επιζωοτία αναγνωρίστηκε: πρόκειται για το *Culicoides obsoletus*. Το είδος αυτό υπάρχει στην Ευρώπη και βρέθηκε έως το Ηνωμένο Βασίλειο. Μέχρι σήμερα, δεν είχε εμπλακεί σε περιπτώσεις μετάδοσης του ΚΠΑ αλλά πιθανότατα ευθύνεται για ανάλογη επιζωοτία στη Βουλγαρία το 1999.

Επιπλέον, ο ιός του ΚΠΑ έχει ήδη απομονωθεί από το συγκεκριμένο έντομο, κατατάσσοντας το έτσι μεταξύ των επίδοξων φορέων. Η μακροβιότητα των ενήλικων εντόμων εκτιμάται στις 10 - 20 μέρες και μέχρι 50 ημέρες. Είναι ενεργά το σούρουπο και αφού πέσει η νύχτα. Η δραστηριότητά τους εξαρτάται στενά από τη θερμοκρασία. Σε γενικές γραμμές, δεν είναι ενεργά σε θερμοκρασία κατώτερες των 13°C και υψηλότερες των 35°C. Στα δικά μας γεωγραφικά πλάτη, παρουσιάζουν συνεπώς μία έλλειψη δραστηριότητας το χειμώνα, ξεκινώντας από το Νοέμβριο.

Η επέκταση της ασθένειας εξαρτάται αποκλειστικά από την παρουσία του εντόμου φορέα.



***Culicoides imicola* και *C.obsoletus* : οι κύριοι βιολογικοί φορείς του ιού στη Ελλάδα**

## **ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΑΣ**

Η ασθένεια εμφανίζεται μόνο στα μέσα του καλοκαιριού και νωρίς το φθινόπωρο, η επικράτηση της γίνεται κυρίως της υγρής εποχής. Εξαφανίζεται απότομα με το ξεκίνημα των παγετών.

Στα πρόβατα η κυριότερη απώλεια βρίσκεται στα ταϊζόμενα αρνιά αλλά μπορεί να υπάρξουν απώλειες και σε μεγαλύτερα – ενήλικα ζώα. Υπάρχει μια πρόιμη αντίδραση της θερμοκρασίας που φτάνει τους 40,5 °C και περισσότερο η οποία διαρκεί για λίγο χρονικό διάστημα.

Τα θύματα πέφτουν σε κατάθλιψη, δεν τρώνε (ανορεξία) και χάνουν απότομα βάρος. Οίδημα στα χείλη, γλώσσα και λαιμό και σε πολλά ζώα αναπτύσσεται το στέρνο. Ο στοματικός βλεννογόμος μερικές φορές κοκκινίζει και προκαλείται κύανωση. Συχνά εμφανίζονται διαβρώσεις στο οδοντικό επίθεμα, στη γλώσσα, στα ούλα, στα όρια των χειλιών και στις γωνίες του στόματος. Τα χείλη ματώνουν εύκολα. Συχνά εμφανίζεται ένα πηχτό κολλώδες απέκκριμα το οποίο ξεραίνεται.

### **Κλινική διάγνωση**

Η κλινική διάγνωση του καταρροϊκού πυρετού στηρίζεται στα συμπτώματα, τις αλλοιώσεις και την εποχιακή εμφάνιση του νοσήματος. Είναι όμως απαραίτητα, στην συνέχεια και η εργαστηριακή επιβεβαίωση.

### **Εργαστηριακή διάγνωση**

Η εργαστηριακή διάγνωση είναι επιβεβαιωτική της προσβολής από τον Bluetongue virus (BTV). Στηρίζεται στον χαρακτηρισμό του ιού, με την βοήθεια είτε των κλασσικών είτε μοριακών μεθόδων (RT – PCR) και την ανίχνευση των ειδικών κατά του ιού αντισωμάτων. Οι κλασσικές μέθοδοι ταυτοποίησης του ιού περιλαμβάνουν την απομόνωση αυτού και εν συνεχεία ταυτοποίηση της ορολογικής ομάδας και την τυποποίηση του οροτύπου του. Η

απομόνωση του ιού επιτυγχάνεται με ενοφθαλμισμό παθολογικού υλικού σε ‘‘υποστρώματα’’ ανάπτυξης ιών ενώ η ταυτοποίηση της ορολογικής ομάδας και η τυποποίηση του οροτύπου βασίζονται στην χρήση ορολογικών δοκιμών για την ανίχνευση των ειδικών της ορολογικής ομάδας και του οροτύπου αντιγόνων του BTV ( πρωτεΐνες VP7 και VP2 αντίστοιχα).

Ο κλασσικός όμως τρόπος ταυτοποίησης του ιού εμφανίζει ορισμένα μειονεκτήματα. Συγκεκριμένα, η απομόνωση μπορεί να αποβεί ανεπιτυχής είτε διότι η συγκέντρωση του ιού στο παθολογικό υλικό είναι πολύ χαμηλή είτε διότι η λοίμωξη οφείλεται σε στελέχη τα οποία δεν πολλαπλασιάζονται στα υποστρώματα ανάπτυξης ιών. Επιπλέον, κατά την ταυτοποίηση της ορολογικής ομάδας δεν είναι πάντοτε δυνατόν να προσδιοριστεί αν η προσβολή οφείλεται σε ιό BTV ή σε ιό EHDV (Epizootic Hemorrhagic disease of deer), λόγω της ύπαρξης διασταυρούμενων αντιδράσεων μεταξύ των αντίστοιχων ορολογικών ομάδων.

Τέλος, η όλη διαδικασία είναι χρονοβόρα διότι απαιτούνται 3-4 εβδομάδες για να ολοκληρωθεί. Τα τελευταία χρόνια η χρήση της RT-PCR συντόμευσε σημαντικά το χρόνο που απαιτείται για να ολοκληρωθεί η διαδικασία διάγνωσης του νοσήματος και παρέκαμψε το εμπόδιο των προαναφερθέντων προβλημάτων. Επιπλέον προσδιορίζει άμεσα τον ορότυπο και τον τοπότυπο του ιού και παρέχει πληροφορίες σχετικές με το αν η προσβολή οφείλεται σε άγριο ή εμβολιακό στέλεχος BTV.

Σε περίπτωση απουσίας συμπτωμάτων είτε γιατί η λοίμωξη είναι ασυμπτωματική είτε γιατί το ζώο ανάρρωσε, η εργαστηριακή διάγνωση βασίζεται στην ανίχνευση των ειδικών της ορολογικής ομάδας και του ορότυπου αντισωμάτων.

Τα αντισώματα αυτά εμφανίζονται 7-14 ημέρες μετά την μόλυνση και διατηρούνται για μεγάλο χρονικό διάστημα. Εντούτοις και στην περίπτωση αυτή υπάρχουν προβλήματα. Συγκεκριμένα, οι ορολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των ειδικών της ορολογικής ομάδας αντισωμάτων δεν είναι πάντοτε ικανές να διακρίνουν τα αντισώματα που παράγονται κατά του ιού BTV από εκείνα που παράγονται κατά του ιού EHDV. Ακόμη η

μεθοδολογία ανίχνευσης των ειδικών του οροτύπου αντισωμάτων είναι χρονοβόρα διότι κάθε υπο εξέταση ορός πρέπει να ελεγχθεί έναντι και των 24 στελεχών αναφοράς που αντιπροσωπεύουν τους αντίστοιχους γνωστούς οροτύπους του ιού BTV, ώστε να διευκρινιστεί ποιο από αυτά προσέβαλε το ζώο.

## **ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ BTV ΜΕ ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ**

### **1. Απομόνωση του ιού**

Για την απομόνωση του ιού ως παθολογικό υλικό από ζωντανά ζώα χρησιμοποιούνται τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Το υλικό αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται από το ζώο κατά την φάση του πυρετού. Από τα νεκρά ζώα χρησιμοποιούνται σπλήνας και λεμφογάγγλια. Επιπλέον μπορεί να καταβληθούν προσπάθειες απομόνωσης του BTV και από τους ενδιάμεσους βιολογικούς ξενιστές (*Culicoides spp*). Τα παθολογικά υλικά επεξεργάζονται καταλλήλως και στην συνέχεια ενοφθαλμίζονται σε “υποστρώματα” ανάπτυξης ιών. Τα υποστρώματα αυτά είναι :

- I. Πειραματόζωα και συγκεκριμένα ευαίσθητο πρόβατο ( υποδόριος ή ενδοφλέβιος ενοφθαλμισμός )
- II. Εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας ηλικίας 9-12 ημερών ( ενδοφλέβιος ενοφθαλμισμός ) και
- III. Κυτταροκαλλιέργειες προέλευσης θηλαστικών ( BHK-21 και Vero ) ή εντόμων ( C6/36 και KC ).

Από τα προαναφερθέντα υποστρώματα καταλληλότερα για απομόνωση του ιού είναι το πρόβατο και τα εμβρυοφόρα αυγά. Ο ενοφθαλμισμός προβάτου προτιμάται στην περίπτωση που έχουν παρέλθει αρκετές εβδομάδες από την μόλυνση του ζώου. Στην περίπτωση αυτή η συγκέντρωση του ιού, κυρίως στο αίμα, πιθανόν να έχει μειωθεί, με αποτέλεσμα ο απευθείας ενοφθαλμισμός του παθολογικού υλικού στα άλλα υποστρώματα να δώσει αρνητικά αποτελέσματα. Το ενοφθαλμισμένο πειραματόζωο παρακολουθείται για 28 ημέρες και εξετάζεται για παραγωγή ειδικών της ορολογικής ομάδας και του ορότυπου του ιού αντισωμάτων, με τις κατάλληλες ορολογικές δοκιμές.

Όσον αφορά στα εμβρυοφόρα αυγά, μετά τον ενοφθαλμισμό με το παθολογικό υλικό, επωάζονται για 7 ημέρες σε θερμοκρασία 33,5° C και ωσκοποούνται καθημερινά. Η παθογόνος δράση του ιού του BTV παρατηρείται μεταξύ 2<sup>ης</sup> και 7<sup>ης</sup> ημέρας μετά τον ενοφθαλμισμό και χαρακτηρίζεται από τον θάνατο του εμβρύου και την παρουσία οιδημάτων και αιμορραγιών σε αυτό. Τα νεκρά έμβρυα, στη συνέχεια ομογενοποιούνται, ακολουθεί φυγοκέντρηση και το υπερκείμενο υγρό συλλέγεται για να χρησιμοποιηθεί στην ταυτοποίηση της ορολογικής ομάδας και του ορότυπου του μολύνοντος στελέχους του ιού BTV. Την ίδια διαδικασία υφίστανται και τα έμβρυα που επιζούν την 7<sup>η</sup> ημέρα μετά τον ενοφθαλμισμό. Σε περίπτωση που δεν παρατηρηθεί θάνατος του εμβρύου, στο προαναφερθέν χρονικό διάστημα των 7 ημερών ακολουθεί 2<sup>η</sup> δίοδος (τυφλή) σε εμβρυοφόρα αυγά ή σε κυτταροκαλλιέργειες. Εφόσον και σε αυτή δεν παρατηρηθεί θάνατος του εμβρύου, τότε το παθολογικό υλικό θεωρείται ότι δεν περιέχει ιό.

Από τεχνικής πλευράς, ό άμεσος ενοφθαλμισμός κυτταροκαλλιιεργειών BHK-21 Ή Vero με το παθολογικό υλικό είναι ευκολότερος απ' ότι εκείνος σε εμβρυοφόρα αυγά. Εντούτοις, το ποσοστό επιτυχίας της απομόνωσης του ιού είναι σημαντικά χαμηλότερο σε σύγκριση με εκείνο στα αυγά. Αυτό οφείλεται στην ανομοιογένεια (σε επίπεδο αμινοξέων) των ικών σωματιδίων που κυκλοφορούν στο αίμα των προσβεβλημένων μηρυκαστικών, με αποτέλεσμα μικρό μόνο ποσοστό τους να φέρει τους κατάλληλους πρωτεϊνικούς επιτόπους που είναι απαραίτητοι για την σύνδεση αρχικά και την μόλυνση στη συνέχεια των κυττάρων της κυτταροκαλλιέργειας. Για τον λόγο αυτό είναι προτιμότερο το παθολογικό υλικό να ενοφθαλμίζεται πρώτα σε αυγά (μία ή δύο δίοδοι ), ώστε να αυξάνεται η συγκέντρωση του ιού και στην συνέχεια σε κυτταροκαλλιέργειες.

Στις κυτταροκαλλιέργειες προέλευσης εντόμων (C6/36 και KC) δεν παρατηρείται CPE. Αντίθετα στις κυτταρικές σειρές BHK-21 και Vero (προέλευσης θηλαστικών) το CPE εκδηλώνεται μέσα σε 2 έως 7 ημέρες μετά τον ενοφθαλμισμό και χαρακτηρίζεται από την παρουσία εκφυλισμένων κυττάρων. Από τις ενοφθαλμισμένες αυτές κυτταροκαλλιέργειες

(εντόμων και θηλαστικών) συλλέγεται το θρεπτικό υπόστρωμα το οποίο εμπεριέχει νεκρά αποκολλημένα κύτταρα και χρησιμοποιείται στην συνέχεια για την ταυτοποίηση της ορολογικής ομάδας και την τυποποίηση του οροτύπου του ιού. Οι κυτταροκαλλιέργειες BHK-21 ΚΑΙ Vero, στις οποίες δεν εμφανίζεται CPE μετά παρέλευση 10 ημερών από τον ενοφθαλμισμό, υφίστανται 2<sup>η</sup> τυφλή δίοδο. Το παθολογικό υλικό θεωρείται ως αρνητικό εφόσον και η 3<sup>η</sup> τυφλή δίοδος σε κυτταροκαλλιέργεια είναι αρνητική.

## **2. Ταυτοποίηση της ορολογικής ομάδας**

Η ταυτοποίηση της ορολογικής ομάδας του BTV στο υπερκείμενο υγρό ενοφθαλμισμένων κυτταροκαλλιεργείων ή ομογενοποιημένων αυγών όρνιθας, βασίζεται στην ανίχνευση της πρωτεΐνης VP7, με την βοήθεια ειδικών της ορολογικής ομάδας μονοκλωνικών αντισωμάτων (Mabs). Οι τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τον σκοπό αυτό είναι η δοκιμή του ανοσοφθορισμού ή η δοκιμή της DAS-ELISA (Double Antigen Sandwich ELISA). Για την δοκιμή του ανοσοφθορισμού εφαρμόζεται η κλασσική διαδικασία ανίχνευσης του ιού, ενώ κατά την εφαρμογή της DAS-ELISA ο ιός συνδέεται αρχικά με ένα πολυκλωνικό αντίσωμα ή ένα ειδικό της ορολογικής ομάδας Mab, το οποίο έχει προσροφηθεί στα φρεάτια μιας ειδικής για ELISA πλάκας. Στην συνέχεια, η σύνδεση αυτή επιβεβαιώνεται με την προσθήκη ενός δευτερεύοντος ειδικού αντισώματος.

## **3. Τυποποίηση του οροτύπου**

Η τυποποίηση του οροτύπου, στον οποίο ανήκει το στέλεχος που απομονώθηκε, βασίζεται στην δοκιμή της εξουδετέρωσης αυτού (Neutralisation Index) από ειδικούς κατά των 24 οροτύπων του BTV αντιορούς. Υπάρχουν 4 διαφορετικές μέθοδοι με τις οποίες μπορεί να εκτελεστεί η δοκιμή της εξουδετέρωσης, δηλαδή η μέθοδος μείωσης πλακών που δημιουργεί ο ιός (plaque reduction test), η μέθοδος αναστολής των πλακών που δημιουργεί ο ιός (plaque inhibition test), η κλασσική μέθοδος εξουδετέρωσης του ιού (microtitre neutralization test) και



η μέθοδος αναστολής του ανοσοφθορισμού (fluorescence inhibition test). Οι ειδικοί του οροτύπου αντιοροί παράγονται σε ινδοχοιρίδια ή κουνέλια.

### **Ανίχνευση αντισωμάτων**

Κατά την διάρκεια της λοίμωξης από καταρροϊκό πυρετό, παράγονται αντισώματα ειδικά της ορολογικής ομάδας και ειδικά του ορότυπου, τα οποία ανιχνεύονται με διάφορες ορολογικές μεθόδους. Εάν το ζώο προσβλήθηκε για πρώτη φορά από τον ιό BTV, τα προαναφερθέντα αντισώματα είναι ειδικά του μολύνοντος ιού. Πολλαπλές, όμως λοιμώξεις του ίδιου ζώου με διαφορετικό κάθε φορά BTV ορότυπο οδηγούν στην παραγωγή αντισωμάτων ικανών να εξουδετερώνουν στελέχη του ιού που ανήκουν σε οροτύπους με τους οποίους το ζώο δεν ήρθε ποτέ σε επαφή. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται διότι αρκετοί ορότυποι έχουν κοινούς εξουδετερωτικούς επιτόπους, που αναγνωρίζονται από τα Mabs που χρησιμοποιούνται στις ορολογικές δοκιμές και επιπλέον έχουν και άλλους επιτόπους οι οποίοι σε έναν ορότυπο είναι σε θέσεις που έρχονται σε επαφή με τα κυκλοφορούντα αντισώματα ενώ σε άλλους οροτύπους είναι σε θέσεις που δεν έρχονται σε επαφή με τα αντισώματα αυτά. (OIE., 2006).

#### **1. Μέθοδοι ανίχνευσης των ειδικών της ορολογικής ομάδας αντισωμάτων**

Οι ορολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνταν μέχρι πρόσφατα για την ανίχνευση των ειδικών της ορολογικής ομάδας αντισωμάτων ήταν η ανοσοδιάχυση σε άγαρ (Agar Gel Immunodiffusion test AGID) και η έμμεση ELISA. Με τις μεθόδους όμως αυτές δεν ήταν πάντοτε δυνατόν να προσδιοριστεί αν η λοίμωξη οφειλόταν σε ιό της ορολογικής ομάδας BTV ή σε ιό της αντιγονικά συγγενούς ορολογικής ομάδας EHDV, λόγω της ύπαρξης διασταυρούμενων αντιδράσεων. Το πρόβλημα λύθηκε με την χρήση Mabs και την εφαρμογή ανταγωνιστικής ELISA (Competitive ELISA, C-ELISA). Για να θεωρηθεί ότι ένα μηρυκαστικό δεν έχει προσβληθεί από τον ιό BTV και έτσι να μπορεί να μετακινηθεί σε άλλη περιοχή, χώρα κλπ. στα οποία δεν κυκλοφορεί ο ιός, το Δ.Γ.Ε απαιτεί το ζώο να έχει εξεταστεί με C-ELISA.

### **α. Δοκιμή της ανοσοδιάγνωσης σε άγαρ**

Η μέθοδος αυτή είναι απλή στην εφαρμογή αλλά έχει το μειονέκτημα ότι ανιχνεύει και αντισώματα κατά άλλων συγγενών Οrbi-ιών όπως επισημάνθηκε προηγουμένως. Γι αυτό οι AGID-θετικοί οροί θα πρέπει να επανεξετάζονται και με άλλες ειδικές τις ορολογικής ομάδας μεθόδους. Ως αντιγόνο χρησιμοποιείται εναιώρημα κυτταροκαλλιιεργειών (BHK-21 ή Vero) που έχουν ενοφθαλμιστεί 24-48 ώρες πριν από την εκτέλεση της δοκιμής με στελέχη των 24 γνωστών οροτύπων του ιού BTV (ένας ορότυπος/καλλιέργεια).

### **β. Δοκιμή της ανταγωνιστικής ELISA (C-ELISA)**

Η ειδικότητα της C-ELISA να ανιχνεύει μόνο τα αντί-BTV αντισώματα είναι αποτέλεσμα της χρήσης του Mab 3-17-A3 ή του Mab 20E9, που είναι ειδικά της ορολογικής ομάδας του BTV. Τα μονοκλώνικά αυτά αντισώματα συνδέονται με την ειδική της ορολογικής ομάδος ιική πρωτεΐνη VP7, όπως συμβαίνει και με τα αντίστοιχα αντισώματα που παράγονται μετά από φυσική λοίμωξη. Επομένως κατά την εκτέλεση της μεθόδου τα αντισώματα του υπό εξέταση ορού ανταγωνίζονται τα Mabs για την σύνδεση με το αντιγόνο. Η πρωτεΐνη VP7, που χρησιμοποιείται ως αντιγόνο, εκφράζεται σε ζύμη.

## **2. Μέθοδος ανίχνευσης των ειδικών του οροτύπου αντισωμάτων**

Για την ανίχνευση των ειδικών του οροτύπου αντισωμάτων χρησιμοποιείται η δοκιμή της οροεξουδετέρωσης (Serum Neutralization Test). Στην μέθοδο αυτή κάθε υπό εξέταση ορός ελέγχεται με κάθε ένα από τα στελέχη αναφοράς που αντιστοιχούν στους 24 ορότυπους του ιού BTV.

### **Διαφορική διάγνωση**

Οι ακόλουθες ασθένειες των προβάτων θα πρέπει να αποκλειστούν πριν από την οριστικοποίηση της διάγνωσης για ΚΠ:

- Λοιμώδες έκθυμα

- Αφθώδης πυρετός
- Οξεία φωτοευαισθησία
- Χωλότητα εξαιτίας λοιμώδους ποδοδερματίτιδας, αποστημάτων ή άλλων παθολογικών καταστάσεων των ποδιών
- Τοξικόσεις από κατανάλωση φυτών
- Πανώλης των μικρών μηρυκαστικών / πανώλης των βοοειδών
- Κοιουρίαση
- Πνευμονία
- Ευλογία του προβάτου
- Μόλυνση από τον ιό της αιμορραγικής νόσου των ελαφοειδών (EHD).

### **Προφύλαξη**

Δεν υπάρχει καμιά αποτελεσματική θεραπεία για τα άρρωστα ζώα. Η καταπολέμηση των εντόμων- φορέων θεωρείται ουσιαστικά μεγάλης σημασίας για την εξάλειψη της νόσου. Παρόλα αυτά, πολλές φορές η χρήση έντομο-απωθητικών ουσιών για την καταπολέμηση των εντόμων-φορέων αποδείχθηκε αναποτελεσματική. Το γεγονός ότι είναι ιδιαίτερα δύσκολη η ανεύρεση των περιοχών όπου υπάρχουν οι προνύμφες του εντόμου και το ότι τα ενήλικα *Culicoides* πλησιάζουν τα ζώα κατά τις νυχτερινές ώρες για την απομύζηση του αιματούχου γεύματος τους τείνουν να μειώνουν την αποτελεσματικότητα της έντομο-απωθητικής θεραπείας.

Περιορισμοί στις μετακινήσεις των ζώων και καραντίνα μπορούν να μειώσουν τον κίνδυνο εξάπλωσης σε ελεύθερες από ΚΠ περιοχές.

Εμβολιασμός με αδρανοποιημένο ή μειωμένης λοιμογόνου δύναμης εμβόλιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο εξάπλωσης του ΚΠ. Οι κύριοι στόχοι του εμβολιασμού είναι:

- πρόληψη της κλινικής εκδήλωσης της νόσου
- περιορισμός της γεωγραφικής επέκτασης της μόλυνσης με τον περιορισμό της διασποράς του ιού

- διευκόλυνση της εμπορίας ζώων μεταξύ μολυσμένων περιοχών και περιοχών που είναι απαλλαγμένες

Οι εμβολιακοί ορότυποι του ιού πρέπει να είναι οι ίδιοι με αυτούς που κυκλοφορούν στη συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή.

Τα αδρανοποιημένα εμβόλια προκαλούν τερατογένεση, έτσι δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ζώα που κυκλοφορούν ιδιαίτερα στο πρώτο μισό της κυκλοφορίας.

Έρευνες για τη διερεύνηση της πιθανότητας μετάδοσης του ιού του ΚΠ από τα εμβολιασμένα πρόβατα σε υγιή συνεχίζονται. Τα αντισώματα σε ζώα εμβολιασμένα με αδρανοποιημένο εμβόλιο αρχίζουν να εμφανίζονται στην κυκλοφορία 10 ημέρες μετά τον εμβολιασμό και φτάνουν στη μέγιστη συγκέντρωση 4 εβδομάδες μετά τον εμβολιασμό. Για επαρκή ανοσοποίηση ο εμβολιασμός με αδρανοποιημένο εμβόλιο θα πρέπει να πραγματοποιείται σε δύο δόσεις και να επαναλαμβάνεται κάθε έτος.

Στην τελευταία επιζωοτία ΚΠ στην Ελλάδα το 2000, ο εμβολιασμός του ζωικού πληθυσμού για ανοσοποίηση κατά του ιού του ΚΠ, αποκλείστηκε ως επιλογή για την εκρίζωση του ΚΠ και η εξάπλωση της νόσου ελέγχθηκε επιτυχώς με καταπολέμηση των εντόμων – φορέων και απομάκρυνση όλων των οροθετικών ζώων.

## **ΕΜΒΟΛΙΑ ΚΑΤΑ ΤΟΥ ΙΟΥ ΒΤV**

Μέχρι σήμερα για τον έλεγχο του καταρροϊκού πυρετού έχουν παρασκευαστεί τρεις κατηγορίες εμβολίων, τα ζωντανά με ελαττωμένης λοιμογόνου δύναμης στελέχη (ΕΛΔ), τα οποία μπορεί να είναι μονοδύναμα (ένας ορότυπος) ή πολυδύναμα (πολλοί ορότυποι), τα βιοτεχνολογικά εμβόλια που παράγονται από την έκφραση των πρωτεϊνών του εξωτερικού και του εσωτερικού καψιδίου (VIPs) σε μπάκουλο-ιό και τα αδρανοποιημένα.

Ζωντανά εμβόλια με ελαττωμένης λοιμογόνου δύναμης στελέχη χρησιμοποιήθηκαν για πρώτη φορά στην Ν. Αφρική. Ο λόγος ήταν ότι στην χώρα αυτή υπήρχε συνεχώς κυκλοφορία

των *Culicoides* και ευαίσθητες φυλές προβάτων, δηλαδή συνθήκες κατάλληλες για την εμφάνιση της νόσου σε όλη την διάρκεια του έτους, με αποτέλεσμα μεγάλες οικονομικές απώλειες στην προβατοτροφία. Τα εμβόλια αυτά χορηγούνταν σε 3 δόσεις, κάθε μία από τις οποίες περιείχε 5 διαφορετικούς ορότυπους. Το σχήμα χορήγησης ήταν μία δόση κάθε τρεις εβδομάδες. Έτσι ένα ζώο εκθέτονταν σε 15 ζωντανούς εμβολιακούς ορότυπους μέσα σε μια περίοδο 9 εβδομάδων.

Μέχρι σήμερα από τις τρεις κατηγορίες εμβολίων εκείνη που έχει χρησιμοποιηθεί ευρύτατα, τόσο σε ενζωτικές όσο και σε επιζωτικές περιοχές είναι η κατηγορία των ΕΛΔ εμβολίων. Τα πλεονεκτήματα τους είναι ότι έχουν χαμηλότερο κόστος παραγωγής ενώ η χορήγηση μιας και μόνο δόσης είναι ικανή να διεγείρει την πρόκληση ανοσίας. (Murray & Eaton 1996).

Παρόλα αυτά έχουν αναφερθεί προβλήματα ασφαλείας από την χρήση τους, όπως πυρετός, αποβολές και τερατογένεση ενώ υπάρχει και η πιθανότητα επανάκτησης της λοιμογόνου δύναμης των εμβολιακών στελεχών. Σημαντικό επίσης πρόβλημα είναι η ιαιμία που προκαλείται στα εμβολιασμένα ζώα, η οποία ευνοεί την μετάδοση εμβολιακών στελεχών σε ανεμβολίαστα ζώα.

Σε ότι αφορά τα αδρανοποιημένα εμβόλια, παρά το γεγονός ότι δεν δημιουργούν προβλήματα ασφαλείας, η χρήση τους είναι πολύ περιορισμένη λόγω του υψηλού κόστους παραγωγής και της χορήγησης 2 τουλάχιστον δόσεων.

Η τρίτη κατηγορία εμβολίων φαίνεται ότι αποτελεί το μέλλον των εμβολίων για τον καταρροϊκό πυρετό, αφού θα είναι ασφαλή στη χρήση τους και θα είναι δυνατό να περιέχουν αντιγόνα πολλών οροτύπων (μέχρι 10) στην ίδια συσκευασία. Επί του παρόντος όμως τα εμβόλια αυτά βρίσκονται σε πειραματικό στάδιο ελέγχου της αποτελεσματικότητάς τους.

Όπως προαναφέρθηκε παραπάνω, ζωντανά εμβόλια, μονοδύναμα ή και πολυδύναμα έχουν χρησιμοποιηθεί και σε μερικές χώρες της Ευρώπης (όχι στην Ελλάδα). Τα εμβόλια αυτά περιέχουν ελαττωμένης λοιμογόνου δύναμης στελέχη του ιού που είναι προσαρμοσμένα να πολλαπλασιάζονται σε κυτταροκαλλιέργειες.

Τα εμβόλια για τον καταρροϊκό πυρετό είναι πραγματικά αποτελεσματικά όταν παράλληλα με την προστασία από την εκδήλωση συμπτωμάτων της νόσου δεν ευνοούν την μετάδοση του εμβολιακού στελέχους στα *Culicoides* και διαμέσου αυτών στα ανεμβολίαστα μηρυκαστικά. Στην Ιταλία η ανίχνευση εμβολιακών στελεχών σε ανεμβολίαστα ζώα σε περιοχές όπου έγινε χρήση ζωντανών εμβολίων, έδειξε ότι ήταν δυνατή η μετάδοση τους με τα *Culicoides*. Για την διερεύνηση του φαινομένου αυτού πραγματοποιήθηκε πειραματική μελέτη, τα αποτελέσματα της οποίας έδειξαν ότι σε πρόβατα εμβολιασμένα με ζωντανό εμβόλιο προκαλείται ιαιμία και μάλιστα σε τέτοια επίπεδα ώστε να είναι εφικτή η μόλυνση του *Culicoides* μέχρι και 17 ημέρες μετά τον εμβολιασμό. (Veronesi και συν., 2005). Βέβαια όπως έχει ήδη αναφερθεί ο μεγάλος κίνδυνος από την χρήση ΕΛΔ εμβολίων, ιδιαίτερα σε περιοχές όπου ήδη κυκλοφορεί άγριος λοιμογόνος ιός είναι να μετατραπεί το εμβολιακό σε λοιμογόνο στέλεχος με το φαινόμενο της ανταλλακτικής ανακατάταξης σε ζώα που έχουν μολυνθεί και από τα δύο στελέχη (εμβολιακό και άγριο). Πράγματι, αυτό συνέβη στην Σικελία με το εμβολιακό στέλεχος του ορότυπου BTV-16 όπου σημειώθηκαν εκτεταμένα κρούσματα της νόσου και αθρόες αποβολές το 2003-2005. Αντίθετα το εμβολιακό στέλεχος του ορότυπου BTV-2 που χρησιμοποιήθηκε στην Κορσική για τον εμβολιασμό προβάτων κατά την διάρκεια του χειμώνα (εποχή που δεν υπάρχουν *Culicoides*) δεν προκάλεσε παρόμοια προβλήματα. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι το εμβολιακό στέλεχος δεν διατηρήθηκε στην φύση.

Λόγω της μειωμένης ασφάλειας που περιέχουν τα ζωντανά ελαττωμένης λοιμογόνου δύναμης πολυδύναμα εμβόλια, πολλά κράτη της Ευρώπης δεν είναι πρόθυμα να τα χρησιμοποιήσουν.

## Η ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ ΚΑΤΑΡΡΟΙΚΟΥ ΠΥΡΕΤΟΥ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Η πρώτη εμφάνιση της νόσου στην Ελλάδα συνέβη τον Οκτώβριο του 1979 στην νήσο Λέσβο. Η Λέσβος, που έχει έκταση 1.632 km<sup>2</sup> και απέχει 6-12 μίλια από τις ακτές της Τουρκίας, φημίζεται για την ανεπτυγμένη προβατοτροφία της και ιδιαίτερα για τις υψηλές αποδόσεις των ζώων της ντόπιας φυλής προβάτων στην παραγωγή γάλακτος. Τα ζώα αυτά εξάγονται σε πολλούς νομούς της χώρας λόγω των αποδόσεων τους. Ο πληθυσμός των προβάτων, κατά την εποχή εμφάνισης της νόσου, ανερχόταν περίπου στα 180.000 ζώα, που ήταν κυρίως της ντόπιας φυλής. Η επιζωοτία που ξεκίνησε από την βόρειο-ανατολική περιοχή της νήσου, επεκτάθηκε σε όλο το ανατολικό τμήμα. Από τον Οκτώβριο μέχρι και τον Δεκέμβριο του 1979, η νόσος εμφανίστηκε σε 68 κοπάδια με 5.000 πρόβατα, που βρίσκονταν σε 17 κοινότητες με ζωικό πληθυσμό 29.300 προβάτων. Το ποσοστό νοσηρότητας σε επίπεδο κοπαδιού κυμάνθηκε από το 10-90%, ενώ στα νοσούντα πρόβατα το ποσοστό θνησιμότητας ήταν 29%. Την ίδια χρονική περίοδο στη Λέσβο εκτός των προβάτων εκτρέφονταν επίσης 5.500 βοοειδή και 18.000 αίγες τα οποία δεν παρουσίασαν συμπτώματα. Τα επόμενα χρόνια δεν εμφανίστηκαν συμπτώματα της νόσου στα ζώα της Λέσβου άλλα ούτε και σε άλλο νησί του Αιγαίου ή σε άλλο σημείο της ηπειρωτικής Ελλάδας.

Τα μέτρα ελέγχου που εφαρμόστηκαν ήταν η περιθωριοποίηση των νησιών του ανατολικού Αιγαίου και η απαγόρευση εξαγωγών ζωντανών μηρυκαστικών από την Λέσβο προς την υπόλοιπη χώρα. Επιπλέον θανατώθηκαν όλα τα πρόβατα που παρουσίαζαν συμπτώματα ή είχαν επιζήσει μετά την εμφάνιση συμπτωμάτων καθώς και τα φαινομενικά υγιή μηρυκαστικά τα οποία βρέθηκαν οροθετικά σε ορολογική εξέταση.

Τον επόμενο χρόνο (1980), ξεκίνησε το πρόγραμμα εκρίζωσης της νόσου από τον πληθυσμό των μηρυκαστικών της Λέσβου. Σύμφωνα με το πρόγραμμα αυτό, κάθε χρόνο στο τέλος της εποχής δραστηριότητας των *Culicoides*, η εξαγωγή μικρών μηρυκαστικών επιτρεπόταν μόνο κατά την διάρκεια του χειμώνα (εποχή με χαμηλή δραστηριότητα των *Culicoides*) και μόνο τα ζώα εκείνα που μετά από ορολογικό έλεγχο ήταν αρνητικά. Τα περιοριστικά μέτρα

συνέχισαν να εφαρμόζονται μέχρι το 1991. Μέτρα επιτήρησης και ελέγχου εφαρμόστηκαν και στα άλλα νησιά του ανατολικού Αιγαίου από το 1980 έως το 1991. Το 1991 έγινε άρση των περιοριστικών μέτρων που είχαν εφαρμοστεί στην Ελλάδα από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα λόγω της επιτυχούς εφαρμογής των μέτρων ελέγχου και επιτήρησης της νόσου.

Από τον Αύγουστο του 1999 άρχισε μια εκτεταμένη επιζωοτία που ξεκίνησε από τον νομό Έβρου και επεκτάθηκε σε μεγάλο μέρος της ηπειρωτικής Ελλάδας. Η περιοχή που μολύνθηκε σοβαρότερα ήταν η Λέσβος όπου από τον Σεπτέμβριο μέχρι το τέλος Δεκεμβρίου του 1999 αναφέρθηκαν 260 κλινικά περιστατικά. Από τον Οκτώβριο μέχρι τέλος Δεκεμβρίου του 2001 αναφέρθηκαν και νέες εστίες της νόσου στην Λέσβο.

Περιοριστικά μέτρα στην μετακίνηση και στο εμπόριο ζωντανών μηρυκαστικών, μέτρα ελέγχου του *Culicoides* spp και ορολογικής επιτήρησης της νόσου εφαρμόστηκαν στην χώρα μας από το 1998 μέχρι τον Μάρτιο του 2005.

Η επιτυχής εφαρμογή των περιοριστικών μέτρων είχε ως αποτέλεσμα την εκρίζωση της νόσου από την Ελλάδα και την ανάκτηση του καθεστώτος σε “ελεύθερης καταρροϊκού πυρετού” χώρας από την Ευρωπαϊκή Κοινότητα. Για την διατήρηση του καθεστώτος αυτού συνεχίζονται μέχρι σήμερα τα μέτρα ελέγχου των *Culicoides* spp, η ορολογική επιτήρηση της νόσου με τον έλεγχο των ζώων, καθώς και ο ορολογικός έλεγχος των εισαγόμενων ζωντανών μηρυκαστικών.



Ταχ.Δ/νση : Αχαρνών 2  
Ταχ.Κώδικας : 101 76 Αθήνα  
Πληροφορίες : Σ. Ντουντουνάκης  
Τηλέφωνο : 210-8836420  
Fax : 210-2125719  
E-mail : [vetserv@ath.forthnet.gr](mailto:vetserv@ath.forthnet.gr)

ΠΡΟΣ : Αποδέκτες Π.Δ

**ΘΕΜΑ: Πρόγραμμα επιτήρησης καταρροϊκού πυρετού στην Ελλάδα.**

## **Α Π Ο Φ Α Σ Η**

### **Ο ΥΠΟΥΡΓΟΣ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Έχοντας υπόψη :

1. Τις διατάξεις:

α. του άρθρου 1 του Π.Δ. 133/92 (Α΄66) «Επιβολή υγειονομικών και λοιπών μέτρων για την προστασία και εξυγίανση της κτηνοτροφίας από λοιμώδη και παρασιτικά νοσήματα των ζώων».

β. του Π.Δ. 138/95 (Α΄88) «Θέσπιση γενικών μέτρων καταπολέμησης ορισμένων ασθενειών των ζώων, καθώς και ειδικών μέτρων για τη φουσαλιδώδη νόσο των χοίρων σε συμμόρφωση προς την Οδηγία 92/119 ΕΚ».

γ. του Π.Δ. 33/2003 (Α΄ 34) «Μέτρα για την καταπολέμηση και εξάλειψη του καταρροϊκού πυρετού του προβάτου » σε συμμόρφωση προς την Οδηγία του Συμβουλίου 2000/75 ΕΚ.

2.Την απόφαση 2005/393/ΕΚ της Επιτροπής , σχετικά με τον καταρροϊκό πυρετό του προβάτου , καθώς και για τη θέσπιση κανόνων για τις μετακινήσεις ζώων από τις εν λόγω ζώνες και σχετικά με την κατάργηση της απόφασης 2003/828/ΕΚ.

3.Την αρ. 301509/19-11-2004 (Β΄1762) απόφαση του Υφυπουργού Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων «Μεταβίβαση στους Γενικούς Γραμματείς , τους Γενικούς Δ/ντές, τους Δ/ντές και τους Τμηματάρχες του Υπουργείου , της εξουσίας να υπογράφουν με "εντολή Υφυπουργού".

4. Το γεγονός ότι ο καταρροϊκός πυρετός του προβάτου ενδημεί σε πολλές μεσογειακές χώρες και πρόσφατα εκδηλώθηκε σε ορισμένα Κράτη Μέλη , από τα οποία κυρίως πραγματοποιούνται αποστολές ευπαθών ζώων στη Ελλάδα. Πιθανή επανεμφάνιση της νόσου πρέπει να διαγνωσθεί άμεσα.

### **Α πο φ α σ ί ζ ο υ μ ε**

Εγκρίνουμε τη διενέργεια από την 1/1/2007 έως 31/12/007 πρόγραμμα επιδημιολογικής επιτήρησης του καταρροϊκού πυρετού στην Ελλάδα και καθορίζουμε τα μέτρα που απαιτούνται για την άμεση διάγνωση, την αντιμετώπιση και την αποτροπή εξάπλωσης της νόσου, ως ακολούθως :

## **A. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗ.**

Η κλινική επιτήρηση του καταρροϊκού πυρετού θα πρέπει να εστιάζεται σε όλα τα μηρυκαστικά της περιοχής αρμοδιότητας κάθε Νομαρχιακής Αυτοδιοίκησης, ιδιαίτερα κατά τους μήνες που υπάρχει κυκλοφορία του ξενιστή, καθώς και σε άλλα ευαίσθητα είδη (ελάφια, ζαρκάδια), που ενδέχεται να εκτρέφονται στην ίδια περιοχή. Ο έλεγχος συνίσταται στη διερεύνηση της παρουσίας των τυπικών κλινικών συμπτωμάτων της νόσου. Η κλινική επιτήρηση διενεργείται από τις αρμόδιες Κτηνιατρικές Αρχές κάθε Νομαρχιακής Αυτοδιοίκησης και σε περίπτωση εντοπισμού κλινικών συμπτωμάτων θα πρέπει να πραγματοποιούνται άμεσα δειγματοληψίες για ορολογικές και ιολογικές εξετάσεις στα ζώα της εκτροφής και να ενημερώνεται άμεσα το τμήμα Λοιμωδών & Παρασιτικών Νοσημάτων της Διεύθυνσης Υγείας Ζώων.

## **B. ΟΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗ**

### **1. ΜΕΤΡΑ ΕΠΙΤΗΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΚΑΤΑΡΡΟΪΚΟΥ ΠΥΡΕΤΟΥ.**

Τα μέτρα επιτήρησης του καταρροϊκού πυρετού αποσκοπούν στη διαπίστωση με αξιόπιστο επιδημιολογικά τρόπο, είτε της παρουσίας του ιού που προκαλεί την νόσο στα μηρυκαστικά με την διενέργεια ορολογικών (c-ELISA) και ιολογικών εξετάσεων (απομόνωση του ιού σε εμβρυοφόρα αυγά όρνιθας και κυτταροκαλλιέργειες, PCR κ.τ.λ.), και διαπίστωση της δραστηριότητας του εντόμου-φορέα σε περιοχές υψηλού κινδύνου. Τα μέτρα αυτά εστιάζονται στην εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης της νόσου σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας και στην έγκαιρη και αποτελεσματική αντιμετώπισή της. Τα μέτρα επιτήρησης περιλαμβάνουν τα εξής:

#### **1.2. Ορο-επιτήρηση προβάτων**

α) Συλλέγονται 200 τυχαία αιμοδείγματα προβάτων από εκτροφές διασπαρμένες στο έδαφος των νομών που περιλαμβάνονται στο σημείο 1.1α. Από τις εκτροφές αυτές δειγματοποιούνται 10 έως 20 ζώα.

β) Τα τυχαία επιλεγθέντα ζώα πρέπει να είναι ηλικίας από 6 μηνών έως 2 ετών, να φέρουν ατομική σήμανση και να είναι γεωγραφικά κατανεμημένα εντός του νομού κατά τρόπο αντιπροσωπευτικό, κοντά σε παλαιότερες διαπιστωμένες εστίες της νόσου και σε βιότοπους των εντόμων – φορέων.

γ) Τα δείγματα αίματος μπορούν να λαμβάνονται παράλληλα με την εφαρμογή άλλων προγραμμάτων επιτήρησης ή εξυγίανσης άλλων νοσημάτων.

δ) Η δειγματοληψία γίνεται ως ακολούθως: Στους νομούς Δωδεκανήσου, Σάμου, Χίου, Λέσβου και Έβρου 200 δείγματα κάθε μήνα σε ετήσια βάση, ενώ στους υπόλοιπους νομούς της παραγράφου 1.1α από 1<sup>η</sup> Μαΐου έως 31 Οκτωβρίου.

## **Γ. Εντομολογική Επιτήρηση**

### **1. Επιτήρηση εντόμων – φορέων**

α) Προβλέπεται η εγκατάσταση και λειτουργία μίας τουλάχιστον εντομοπαγίδας στους κατωτέρω νομούς:

Λέσβου, Δωδεκανήσου (Ρόδος), Έβρου, Ξάνθης, Σερρών, Θεσσαλονίκης, Αιτωλοακαρνανίας και Ηρακλείου. Εξετάζονται και ταξινομούνται τα συλλεχθέντα έντομα δύο φορές το μήνα κατά το χρονικό διάστημα από 1 Απριλίου έως 30 Νοεμβρίου 2007.

β) Η θέση εγκατάστασης της εντομοπαγίδας πρέπει να επιλεγεί με βάση, αφενός μεν τη διαθέσιμη υποδομή (παροχή ηλεκτρικού ρεύματος) και αφετέρου τη γεινίαση με πιθανούς βιότοπους των εντόμων-φορέων.

Ο αριθμός των εντομοπαγίδων ανά νομό, η θέση όπου θα τοποθετηθούν αλλά και η προσθήκη ενδεχομένων άλλων νομών στον κατάλογο μπορούν να διαφοροποιούνται

ανάλογα με τα στοιχεία παρακολούθησης και την εκτίμηση του υπεύθυνου ταυτοποίησης των εντόμων.

## **2. Μέτρα καταπολέμησης του ξενιστή**

Τα μέτρα ελέγχου του εντόμου-ξενιστή αποβλέπουν στην, κατά το δυνατόν, μείωση του αριθμού των ενηλίκων εντόμων κατά την περίοδο του πολλαπλασιασμού, με στόχο τη μείωση του πληθυσμού των φορέων του ιού κατά την περίοδο υψηλής δραστηριότητας.

Η καταπολέμηση των εντόμων-ξενιστών εφαρμόζεται από τις νομαρχιακού επιπέδου Κτηνιατρικές Αρχές, στους νομούς εφόσον διαπιστώνεται κυκλοφορία ιού του καταρροϊκού πυρετού και περιλαμβάνει τα ακόλουθα μέτρα :

α) ψεκασμό με εγκεκριμένο έντομο-απωθητικό κυρίως των βοοειδών και των αντικειμένων, σκευών, εργαλείων και χώρων εντός και πέριξ των εκτροφών τους, με φροντίδα και ευθύνη του παραγωγού και

β) ψεκασμό με εγκεκριμένο και κατάλληλο εντομοκτόνο ή έντομο-απωθητικό των πιθανών βιοτόπων ή τόπων αναπαραγωγής των εντόμων με φροντίδα και ευθύνη της Νομαρχίας η οποία θα παράσχει τα υλικά μέσα και το απαραίτητο προσωπικό.

Τεχνικές λεπτομέρειες και οδηγίες εφαρμογής των παραπάνω μέτρων καθορίζονται στο Παράρτημα Α' της παρούσας. Οι Διευθύνσεις Κτηνιατρικής των Νομαρχιακών Αυτοδιοικήσεων τηρούν αναλυτικά στοιχεία εφαρμογής των μέτρων εντομοπροστασίας σύμφωνα με το Παράρτημα Β' της παρούσας και κοινοποιούνται εφόσον ζητηθεί στην αρμόδια κεντρική

### **Δ. Καθήκοντα αρμοδίων Αρχών**

#### **1. Το Τμήμα Λοιμωδών & Παρασιτικών Νοσημάτων της Διεύθυνσης Υγείας Ζώων είναι αρμόδιο για:**

- τον καθορισμό των μέτρων επιτήρησης της νόσου και του εντόμου-φορέα, σε συνεργασία με το Εργαστήριο Ιολογίας του Κέντρου Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων Αθηνών.
- τη συγκέντρωση των πληροφοριών και το συντονισμό των περιφερειακών Υπηρεσιών στην εφαρμογή των μέτρων καταπολέμησης των εντόμων-φορέων, την πρόληψη εκδήλωσης της νόσου και την εφαρμογή των μέτρων καταπολέμησης.
- τη συνεργασία με επιστημονικούς φορείς, Διεθνείς Οργανισμούς (ΟΙΕ) και τις αρμόδιες αρχές της Ευρωπαϊκής Επιτροπής.

#### **2. Το Εργαστήριο Ιολογίας & Παρασιτολογίας του Κ.Κ.Ι. Αθηνών είναι αρμόδιο για:**

- την προετοιμασία των εντομοπαγίδων, την αποστολή τους στους νομούς στις θέσεις επιτήρησης, την ταυτοποίηση των συλλεγομένων εντόμων, την απομόνωση του ιού και τη γνωστοποίηση των εργαστηριακών αποτελεσμάτων στη Διεύθυνση Υγείας των Ζώων.
- την εκτέλεση των εργαστηριακών εξετάσεων για τη διάγνωση της ασθένειας σε δείγματα αίματος και την κοινοποίηση των εργαστηριακών αποτελεσμάτων στη Διεύθυνση Υγείας των Ζώων' και στις Κτηνιατρικές Αρχές των Νομαρχιακών Αυτοδιοικήσεων από τις οποίες προήλθαν τα δείγματα.
- την επιστημονική παρακολούθηση της εξέλιξης της ασθένειας και την κοινοποίηση στο Τμήμα Λοιμωδών & Παρασιτικών Νοσημάτων της Διεύθυνσης Υγείας Ζώων με μηνιαία έκθεση όλων των εργαστηριακών αποτελεσμάτων.

### **3. Οι Κτηνιατρικές Αρχές των Νομαρχιακών Αυτοδιοικήσεων είναι αρμόδιες για:**

- την επιλογή των κτηνοτρόφων με τους οποίους θα συνεργαστούν, τον καθορισμό και την καταγραφή των ζώων-μαρτύρων.
- την επιλογή του αριθμού και της θέσης τοποθέτησης των εντομοπαγίδων σε συνεργασία με το Εργαστήριο Ιολογίας & Παρασιτολογίας του Κ.Κ.Ι. Αθηνών.
- την κοινοποίηση στο Τμήμα Λοιμωδών & Παρασιτικών Νοσημάτων και στο Εργαστήριο Ιολογίας και Παρασιτολογίας του Κ.Κ.Ι. Αθηνών της γεωγραφικής θέσης της εκτροφής καθώς και την απεικόνιση σε χάρτη (γεωγραφικές συντεταγμένες) της θέσης της εντομοπαγίδας.
- τη λήψη δειγμάτων αίματος από τα ζώα, σύμφωνα με τις παραγράφους Β 1.1 και Β 1.2 και την αποστολή των δειγμάτων στο Εργαστήριο Ιολογίας του Κ.Κ.Ι. Αθηνών προς εξέταση,
- την παρακολούθηση των ζώων για τον έγκαιρο εντοπισμό ενδεχόμενων συμπτωμάτων της νόσου και τη λήψη των σχετικών μέτρων,
- την παρακολούθηση των εντομοπαγίδων για τη σωστή τους λειτουργία και την αποστολή των παγίδων στο Εργαστήριο με ταυτόχρονη αντικατάσταση με νέα.
- τη λήψη απόφασης για την καταπολέμηση του εντόμου-φορέα, σε συνεργασία με άλλες αρμόδιες αρχές της Νομαρχιακής Αυτοδιοίκησης.
- 
- την αποστολή στο Εργαστήριο Ιολογίας & Παρασιτολογίας του Κ.Κ.Ι. Αθηνών όλων των απαραίτητων εγγράφων και στοιχείων σύμφωνα με τα Παραρτήματα της πα

### **4. Ενέργειες επί εντοπισμού οροθετικού μάρτυρα**

Όταν κατά τις εργαστηριακές εξετάσεις προκύψει ότι ορισμένα ζώα μάρτυρες εμφανίζουν οροθετικότητα, εφαρμόζονται αμέσως τα ακόλουθα μέτρα :

- Επανάληψη της αιμοληψίας με αντιπηκτικό για την απομόνωση του ιού.
- Αυξημένη ετοιμότητα και κλινικός έλεγχος όλων των ευαίσθητων ειδών ζώων του νομού, όπως περιγράφονται στο σχέδιο επείγουσας δράσης.
- Η επαγρύπνηση παραμένει επί 50 ημέρες από της κοινοποίησής της οροθετικότητας και λήγει μόνο εφόσον δεν παρατηρηθεί κρούσμα σε ολόκληρο το νομό κατά το διάστημα αυτό ή δεν απομονωθεί εργαστηριακά ο ιός.
- Σε συνεργασία με τη μετεωρολογική υπηρεσία του νομού, ερευνώνται οι κατευθύνσεις των ανέμων που καταγράφηκαν κατά τις 40-20 προηγούμενες ημέρες από τη δειγματοληψία του οροθετικού μάρτυρα, προκειμένου να εντοπιστεί – κατά το δυνατόν – πιθανή πηγή προέλευσης εντόμων φορέων και να εφαρμοστούν μέτρα καταπολέμησης των ενηλίκων εντόμων
- Ενημερώνεται άμεσα το Τμήμα Λοιμωδών και Παρασιτικών Νοσημάτων της Δ/σης Υγείας των Ζώων.
- Σε περίπτωση εμφάνισης συμπτωμάτων ή και απομόνωσης του ιού εφαρμόζεται το σχέδιο επείγουσας δράσης και οι διατάξεις του Π.Δ. 33/2003 (Α' 34).

Η απόφαση με αριθμό 309761/2005 ( ΦΕΚ Β' 1472) καταργείται.

Η παρούσα να δημοσιευθεί στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως.

**Ο ΓΕΝΙΚΟΣ ΓΡΑΜΜΑΤΕΑΣ**

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΙΑΝΟΜΗΣ

### Α΄ Αποδέκτες για ενέργεια

1. Νομαρχιακές Αυτοδιοικήσεις  
Διευθύνσεις Κτηνιατρικής αυτών  
  
Έδρες τους
2. Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων Αθηνών  
  
α) Ινστιτούτο Λοιμωδών & Παρασιτικών Νοσημάτων – Εργαστήριο Ιολογίας  
β) Ινστιτούτο Λοιμωδών & Παρασιτικών Νοσημάτων – Εργαστήριο Παρασιτολογίας  
Νεαπόλεως 25 – 153.10 Αγία Παρασκευή

### Β΄ Αποδέκτες για κοινοποίηση

#### Εσωτερική διανομή

1. Γραφείο κ. Υπουργού Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων
2. Γραφείο κ. Υφυπουργού Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων
3. Γραφείο Γενικού Γραμματέα κ. Κωνσταντίνου Σκιαδά
4. Γραφείο Γενικού Γραμματέα κ. Χρήστου Αυγουλά
- 5 Διεύθυνση Υγείας των Ζώων  
Τμήματα Α, Β, Γ, Δ – στο υπουργείο
- 6 Διεύθυνση Κτηνιατρικής Δημόσιας Υγείας – στο υπουργείο
- 7 Διεύθυνση Κτηνιατρικής Αντίληψης, Φαρμάκων & Εφαρμογών – στο υπουργείο
- 8 Διεύθυνση Κτηνιατρικής Επιθεώρησης & Ελέγχου – στο υπουργείο

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

**Παράρτημα Α΄:** Τεχνικές & Εφαρμοστικές Οδηγίες Καταπολέμησης Εντόμων Φορέων του ιού του Καταρροϊκού Πυρετού (*Culicoides spp*). (\*)

### **1. Για χρήση επί των ζώων (κατά σειρά δραστηριότητας στα *C. imicola*, (Braveman, 97)**

#### 1.1 **BUTOX,75** (Deltamethrin)

Οδηγίες χρήσης : Υγρό για επιχύσεις στη ράχη των ζώων.  
Επανάληψη κάθε 5 εβδομάδες.

Παρατηρήσεις : Ασφαλές για το γάλα και το κρέας. Μηδενικός χρόνος αναμονής.

#### 1.2 **COOPERTIX** (Cyalothrin)

Οδηγίες χρήσης : Υγρό για επιχύσεις κατά μήκος της ράχης των ζώων.  
Επανάληψη κάθε 2 εβδομάδες

#### 1.3 **ECTOPOR** (Cypermethrin)

Οδηγίες χρήσης : Υγρό για επιχύσεις κατά μήκος της ράχης των ζώων.  
Επανάληψη κάθε 2 εβδομάδες

#### 1.4 **CYPOR** (Cypermethrin)

Οδηγίες χρήσης : Υγρό για επιχύσεις κατά μήκος της ράχης των ζώων.

Επανάληψη κάθε 7 εβδομάδες

Παρατηρήσεις : Ιδιαίτερα αποτελεσματικό στα πρόβατα.

#### 1.5 **STOMOXIN-P** (Permethrin)

Οδηγίες χρήσης : Διαλυτή σκόνη σε φακέλους των 25 gr.

Διάλυση 1 φακέλου σε 10 lt νερό για εξωτερικό ψεκάσμο των ζώων. Επανάληψη κάθε 1 εβδομάδα.

Παρατηρήσεις : Το σκεύασμα είναι τοξικό για μέλισσες και ψάρια.

### 2. Για χρήση επί αντικειμένων, σκευών, χώρων και υδατο-συλλογών

#### 2.1 **IMPERATOR** (Permethrin) Υγρό

Οδηγίες χρήσης : α) 20 ml σε 1 lt νερό για ψεκάσμο των χώρων και των σκευών στους σταύλους. Επανάληψη κάθε 2 εβδομάδες

β) 4 ml σε 40 lt νερό για ψεκάσμο συλλογών υγρών λυμάτων και στάσιμων νερών γύρω από τις εκτροφές.

Παρατηρήσεις : Κατάλληλο για την καταπολέμηση προνυμφών εντόμων. Τοξικό για μέλισσες και ψάρια

#### 2.2 **NEPOREX** (Insect Growth Regulator)

Οδηγίες χρήσης : Σκόνη για επιφανειακή επίταση κοπροσωρού και στρωμνής. Επανάληψη κάθε 2 εβδομάδες.

Παρατηρήσεις : Εμποδίζει την ανάπτυξη των προνυμφών των δίπτερων εντόμων

#### 2.3 **Άσπρισμα με ασβέστη** όλων των εσωτερικών επιφανειών των εκτροφών, ιδίως σε σκοτεινά και υγρά σημεία.

-----  
**Παράρτημα Β'** : Έκθεση εφαρμογής μέτρων εντομο-προστασίας κατά του ΚΠ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ #  
N.A ..... ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ ΤΗΡΗΣΗΣ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ  
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ

**Χρονική περίοδος εφαρμογής μέτρων**

**Μέρος Ι : Καταπολέμηση εντόμων σε ζώα και εκτροφές (\*)**

| Περιοχή ή Χωριό | Αριθμός Εκτροφών | Αριθμός Παρόντων Ζώων |  |         |       |
|-----------------|------------------|-----------------------|--|---------|-------|
|                 |                  | Βοοειδή               |  | Πρόβατα | Αίγες |
|                 |                  |                       |  |         |       |
|                 |                  |                       |  |         |       |
|                 |                  |                       |  |         |       |
|                 |                  |                       |  |         |       |
|                 |                  |                       |  |         |       |

|               |  |  |  |  |  |
|---------------|--|--|--|--|--|
|               |  |  |  |  |  |
|               |  |  |  |  |  |
|               |  |  |  |  |  |
|               |  |  |  |  |  |
|               |  |  |  |  |  |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b> |  |  |  |  |  |

(\* ) Τηρούνται συγκεντρωτικά στοιχεία εντομο-προστασίας για κάθε περιοχή ή χωριό και για όλο το Νομό

**Μέρος ΙΙ : Καταπολέμηση εντόμων σε βιότοπους (\*)**

| <b>Περιοχή ή Χωριό</b> | <b>Σύντομη περιγραφή βιοτόπου</b> | <b>Φορέας εφαρμογής</b> |  |
|------------------------|-----------------------------------|-------------------------|--|
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |
|                        |                                   |                         |  |

(\* ) Τηρούνται συγκεντρωτικά στοιχεία για κάθε περιοχή ή χωριό και για όλο το Νομό.

**Παράρτημα Δ' :** Έκθεση ορολογικής επιτήρησης ΚΠ σε αιγοπρόβατα

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Ν.Α .....  
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ  
Τμήμα Ιολογίας  
Νεαπόλεως 25 153 10  
Αγία Παρασκευή, Αθήνα

ΠΡΟΣ : Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων  
Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων

| Δήμος ή<br>Κοινότητα | Κωδ.<br>Εκτροφής | Αριθμός<br>Ενωτίου | Ημερομηνία<br>Αιμοληψίας |
|----------------------|------------------|--------------------|--------------------------|
|----------------------|------------------|--------------------|--------------------------|

|       |  |  |  |
|-------|--|--|--|
| ..... |  |  |  |
|-------|--|--|--|

|       |  |  |  |
|-------|--|--|--|
| ..... |  |  |  |
|-------|--|--|--|



**Παράρτημα Ε' :** Έκθεση εντομολογικής επιτήρησης εντόμων-φορέων ιού του ΚΠ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ  
Ν.Α .....  
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ  
Αθηνών

ΠΡΟΣ : Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης  
και Τροφίμων  
Κέντρο Κτηνιατρικών Ιδρυμάτων

Τμήμα Παρασιτολογίας  
Νεαπόλεως 25 153 10 Αθήνα

**Μέρος Ι :** Στοιχεία συλλογής εντόμων (Συμπληρώνεται από τη Δ/ση Κτηνιατρικής)

Τοποθεσία εντομο-παγίδας :   
Γεωγραφικές συντεταγμένες :   
Ημερομηνία συλλογής / αποστολής :   
Σήμανση περιέκτη :   
Όνομα κτηνιάτρου :

Σχόλια - Παρατηρήσεις :

(Ημερομηνία)

(Υπογραφή)

.....

.....

**Μέρος ΙΙ :** Στοιχεία ταξινόμησης εντόμων (Συμπληρώνεται από το Εργαστήριο Παρασιτολογίας)

Ημερομηνία άφιξης στο Εργαστήριο :   
Ημερομηνία ταξινόμησης :   
Όνομα Εντομολόγου :

**Μέρος ΙΙΙ :** Αποτελέσματα ταξινόμησης εντόμων (Συμπληρώνεται από το Εργ.Παρασιτολογίας)

| Είδος <i>Culicoides</i>  | Αριθμός | Είδος <i>Culicoides</i> | Αριθμός |
|--------------------------|---------|-------------------------|---------|
| <i>C. imicola</i>        |         | <i>C. parroti</i>       |         |
| <i>C. obsoletus</i>      |         | <i>C. longipennis</i>   |         |
| <i>C. circumscriptus</i> |         | <i>C. shaklawensis</i>  |         |
| <i>C. cataneii</i>       |         | <i>C. odibilis</i>      |         |
| <i>C. geigelensis</i>    |         | <i>C. cubitalis</i>     |         |
| <i>C. punctatus</i>      |         | <i>C. dzhafarovi</i>    |         |
| <i>C. pulicaris</i>      |         | <i>C. fagineus</i>      |         |
| <i>C. newstaedi</i>      |         | <i>C. achrayi</i>       |         |
| <i>C. maritimus</i>      |         | <i>C. kurensis</i>      |         |
| <i>C. puncticollis</i>   |         | <i>C. scoticus</i>      |         |
| <i>C. seifadinei</i>     |         | <i>C. spp.</i>          |         |

**Μέρος ΙV :** Σχόλια- Παρατηρήσεις (Συμπληρώνεται από το Εργαστήριο Παρασιτολογίας)

|                      |
|----------------------|
| <input type="text"/> |
| <input type="text"/> |
| <input type="text"/> |

Κοινοποιείται στη Διεύθυνση Υγείας των Ζώων, Τμήμα Β' αρ. φαξ 210.2125719  
(Ημερομηνία) (Υπογραφή)

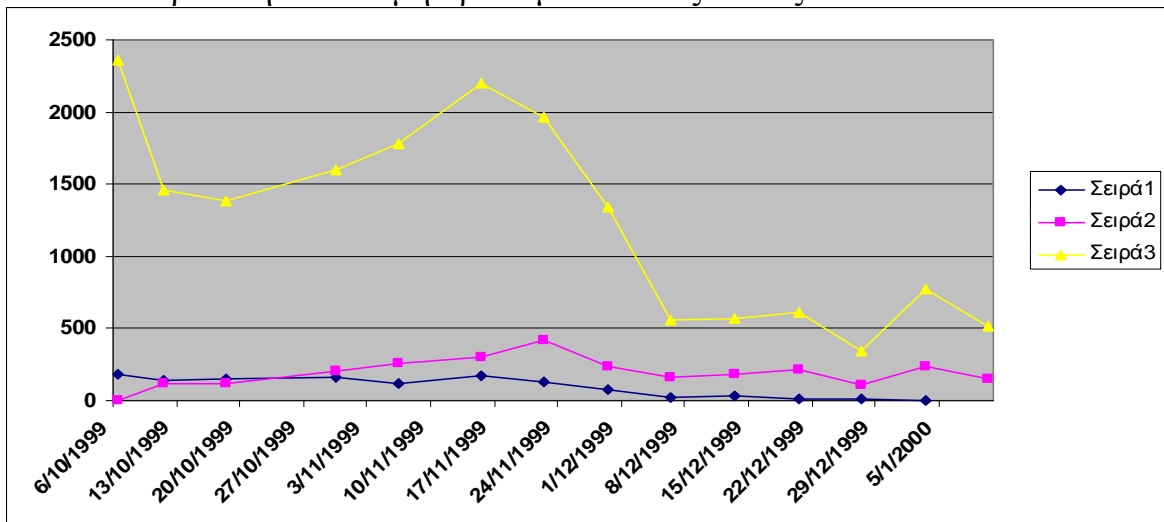
## ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Τον Νοέμβριο του 2008 το στέλεχος του ιού που πρόσβαλε το νησί ανήκε στον ορότυπο BTV-16. Ο πληθυσμός του νησιού ανέρχεται σε

- 350000 πρόβατα
- 38000 αίγες
- 7000 βοοειδή

ο οποίος κατανέμεται σε 4300 εκτροφές προβάτων ή αιγοπροβάτων και 1000 εκτροφές βοοειδών.

### Χρονική κατανομή κρουσμάτων επιζωοτίας 1999- 2000

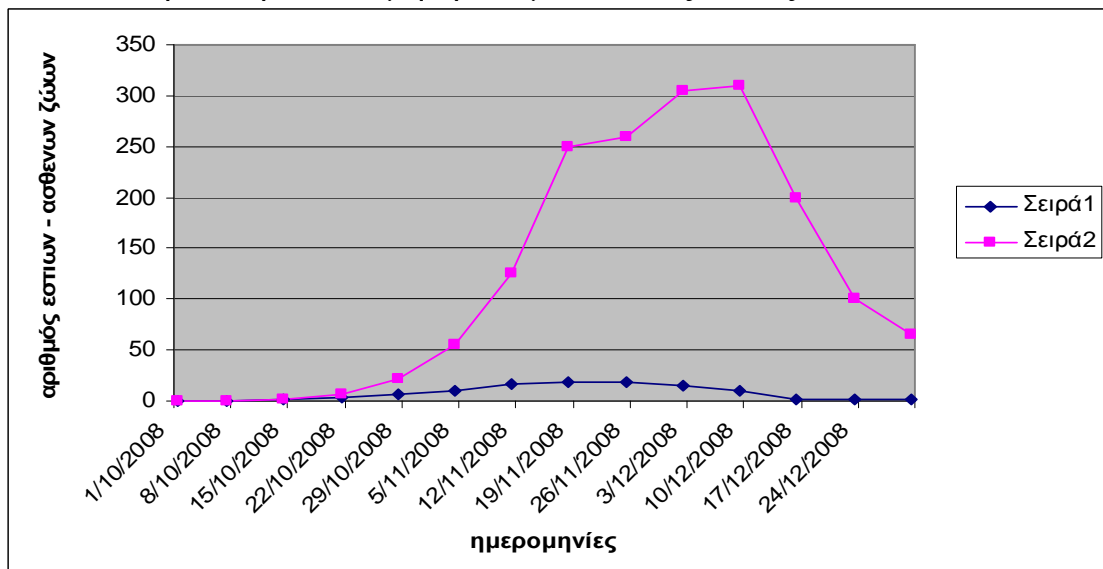


Σειρά 1: νέες εστίες

Σειρά 2: αναζωπυρώσεις εστιών

Σειρά 3: αριθμός ασθενών – θανατωμένων ζώων

### Χρονική κατανομή κρουσμάτων επιζωοτίας 2008



### **Επιζωοτία του 2008**

Προσβλήθηκαν 80 εκτροφές προβάτων με συνολικό πληθυσμό 15350 (0,5% των εκτροφών του νησιού)

- Αριθμός θανάτων: 156
- Αριθμός ασθενών ζώων: 1189
- Ποσοστό Νοσηρότητας: 7,75%
- Ποσοστό Θνησιμότητας: 1%

### **Κλινικά συμπτώματα**

Τα κλινικά συμπτώματα στην τελευταία επιζωοτία ήταν ήπια και η μεταδοτικότητα της νόσου χαμηλή.

Βασικά παρατηρήθηκαν:

- Δυσχέρεια στη βάδιση κύριο και σταθερό σύμπτωμα στην επιζωοτία του 2008.
- Πυρεξία: 40,5 – 41,5 °C

### **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

#### **εργαστηριακών εξετάσεων**

#### **Ορολογικές εξετάσεις (από 11-09-08 έως 25-02-09)**

- ❖ Εξετάσθηκαν 145 εκτροφές αιγοπροβάτων και βοοειδών για ΒΤ και βρέθηκαν 90 ορολογικά θετικές
- ❖ Εξετάσθηκαν 1618 αιμοδείγματα αιγοπροβάτων και 234 βοοειδών για ΒΤ και βρέθηκαν θετικά 435 αιγοπρόβατα και 27 βοοειδή (τα 25 ήταν εισαγωγής)
- ❖ Εξετάσθηκαν 217 αιμοδείγματα για Λοιμώδες Έκθυμα και βρέθηκαν 60 Θετικά
- ❖ Εξετάσθηκαν 217 αιμοδείγματα για Ευλογιά και βρέθηκαν Αρνητικά

- ❖ Εξετάσθηκαν 50 αιμοδείγματα για EHD και βρέθηκαν Αρνητικά

### **Ιολογικές εξετάσεις**

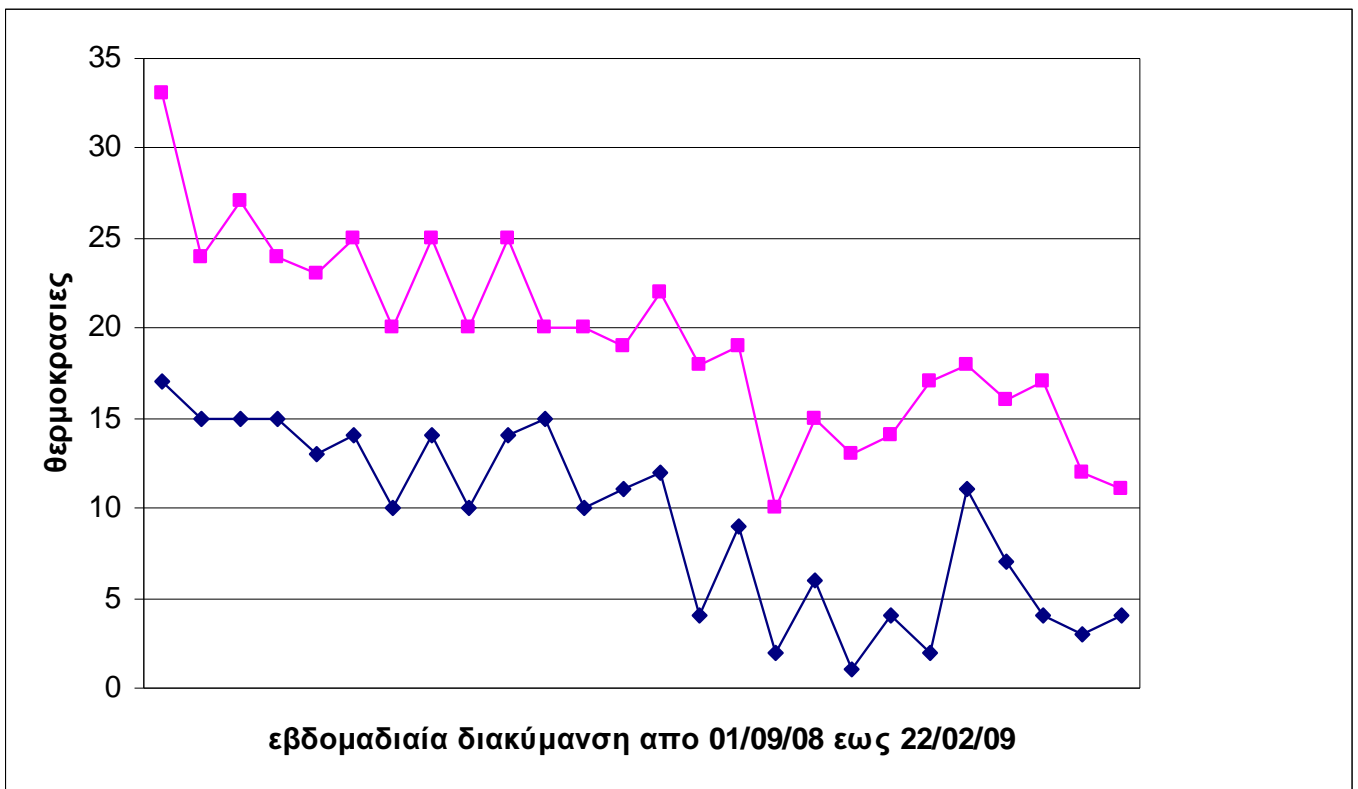
- ❖ Απομονώθηκε ο ιός του BT από τις 3 αρχικές περιπτώσεις, σε εμβρυοφόρα αυγά, κύτταρα BHK και κύτταρα εντόμων KC.
- ❖ Από τις 21 εκτροφές που εξετάσθηκαν για ανίχνευση του γενώματος του ιού BT με τη μέθοδο της real-time RT-PCR βρέθηκαν 15 Θετικές.
- ❖ Τα στελέχη που τυποποιήθηκαν ανήκαν στους ορότυπους 16 και 8(έγινε διερεύνηση για τους ορότυπους 1,2,4,8,9,16) . Συνεχίζεται η τυποποίηση των υπολοίπων στελεχών που βρέθηκαν θετικά στην real-time RT-PCR.

### **Εντομολογικά στοιχεία**

- ❖ Οι παγιδεύσεις των εντόμων έδειξαν την ύπαρξη ενηλίκων καθόλη τη διάρκεια της νόσου και μέχρι το τέλος του Ιανουαρίου 2009. Τα ευρήματα αυτά είναι αναμενόμενα λόγω του ήπιου χειμώνα τον οποίο διανύσαμε.
- ❖ Παρατηρήθηκε επίσης πολύ μεγάλος αριθμός *C. imicola* στις παγιδεύσεις των μηνών Οκτωβρίου και Νοεμβρίου 2008. Το ίδιο φαινόμενο έχει παρατηρηθεί και κατά τη διάρκεια των επιζωοτιών καταρροϊκού τα προηγούμενα χρόνια ( 1999-2000-2001).



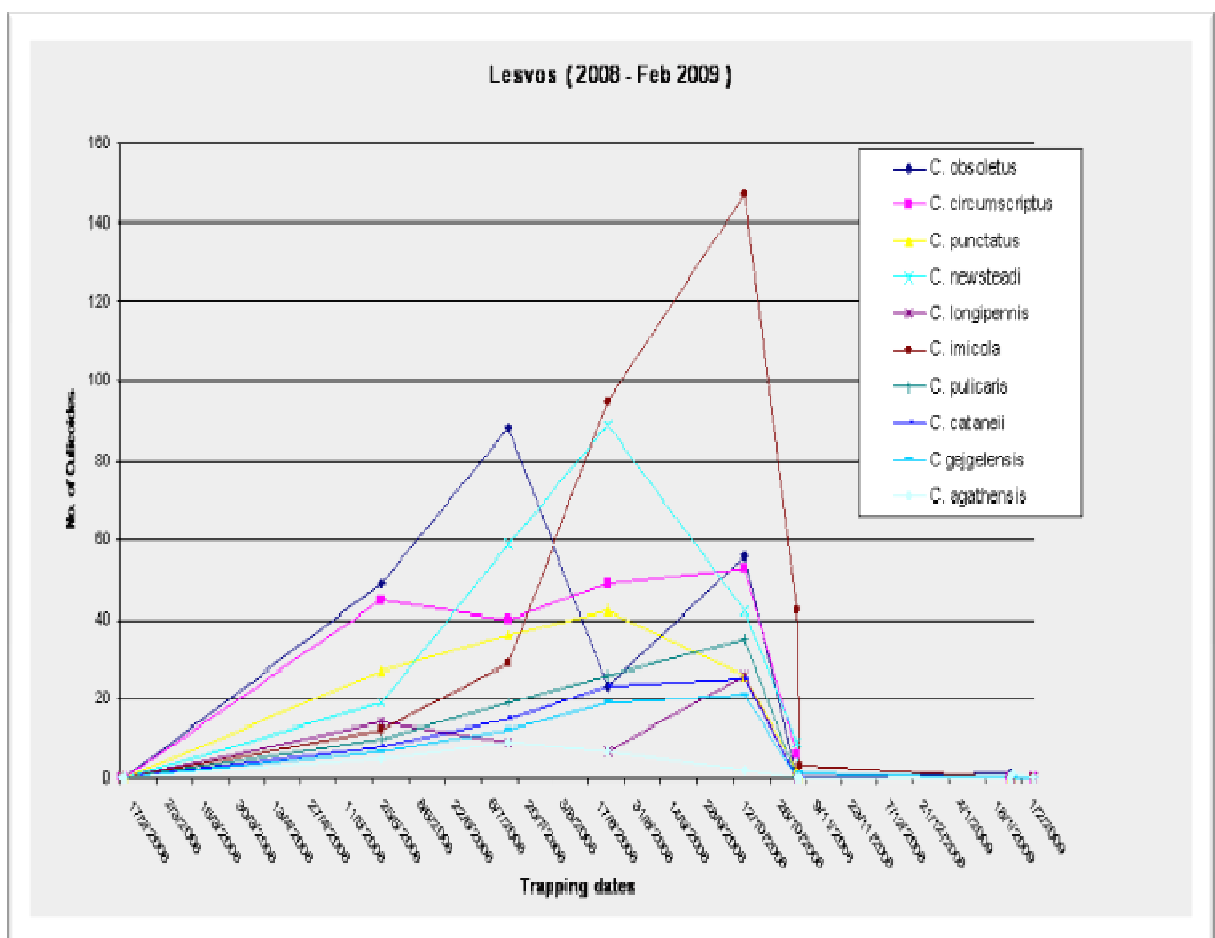
**Κλιματολογικές συνθήκες**



**Οι μέσες θερμοκρασίες είναι υψηλές για την εποχή και ευνοούν την δραστηριότητα του *Culicoides***

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

- ❖ Εβδομαδιαίες παγιδεύσεις απέδειξαν ότι η έξαρση της νόσου συμπίπτει με αύξηση των πληθυσμών των εντόμων-φορέων σύμφωνα με τα διαγράμματα



## ΜΕΡΟΣ 2<sup>ο</sup>

### ΜΕΛΙΤΑΙΟΣ ΠΥΡΕΤΟΣ ΤΩΝ ΑΙΓΟΠΡΟΒΑΤΩΝ

#### ΟΡΙΣΜΟΣ

Βρουκέλλωση είναι μια βακτηριακή ασθένεια που προκαλείται από τα μέλη του γένους *Brucella* που προσβάλλει κυρίως τα ζώα αλλά εμφανίζεται και στους ανθρώπους.

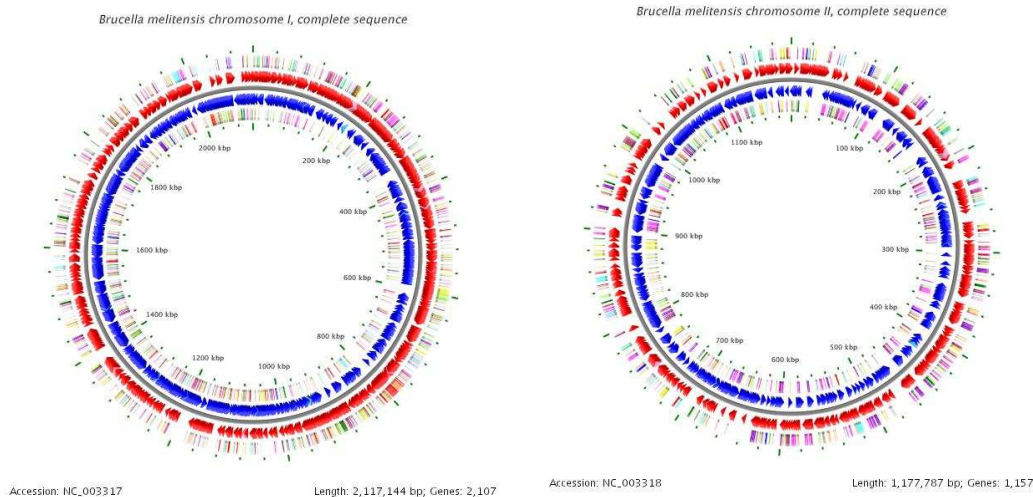
Οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις δεν είναι τόσο εμφανείς: σπληνομεγαλία, υπεραιμία του ύπατος, υπεραιμία και διόγκωση των λεμφαδένων και μερικές φορές νεφρίτιδα. Η αποβολή αποτελεί το πιο συχνό σύμπτωμα, το οποίο όμως μπορεί και να λείπει, οπότε οι προβατίνες ή οι κατσίκες είναι φορείς του βακτηριδίου που το διασπείρουν παντού. Επιπλέον παρουσιάζεται κατακράτηση υστέρου, ενδομητρίτιδα, μαστίτιδα, κερατίτιδα και στον κριό ορχι-επιδιδυμίτιδα.

Το γένος *Brucella* αποτελείται από έξι (6) είδη: *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Brucella suis*, *Brucella neotomae*, *Brucella onis* και *Brucella canis*.

Τα πρώτα τρία (3) είδη υποδιαιρούνται αντίστοιχα σε 3, 8, 5 βιότυπους οι οποίοι αναγνωρίζονται από τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

- 1) Διοξείδιο του άνθρακα ( $\text{CO}_2$ ) που χρειάζεται για την πρώτη απομόνωση
- 2) Παραγωγή υδρόθειου ( $\text{H}_2\text{S}$ )
- 3) Ανάπτυξη παρουσία θειονίνης και βασικής φουξίνης.
- 4) Αιμοσυγκόλληση χρησιμοποιημένων μονοειδικών ορών προς τα αντιγόνα A, M, και R.

Είναι ενδιαφέρον ότι από μία έρευνα πάνω στην συμπεριφορά που παρουσιάζουν τα 51 στελέχη γονιδιωμάτων της βρουκέλλας, όλα τα στελέχη εμφανίζονται να είναι όμοια και έτσι δικαιολογείται ότι τα υπολογίζουμε σαν ένα είδος, το οποίο για λόγους διευκόλυνσης ονομάζεται *B.melitensis*.



**Εικόνα 1: Brucella melitensis χρωμοσώματα I και II**

Τα μέλη του γένους *Brucella* είναι πλειομορφικοί οργανισμοί, συχνά κόκκο-ραβδοειδούς μορφής. Αναπτύσσονται σε θρεπτικό υλικό που περιέχει τρυπτικάση-σόγια, η οποία είναι ακίνητη, παράγουν καταλάση και δεν γίνεται ζύμωση γλυκόζης ή λακτόζης ή υγρή ζελατίνη.

Δίνουν αρνητική αντίδραση στο Voges, Proskauer και στο κυανό του μεθυλενίου. Σχεδόν όλα τα στελέχη της *B. melitensis* ανάγουν το νιτρικό άλας, δεν παράγουν αξιόλογες ποσότητες υδρόθειου και υδρολύουν την ουρία με συγκεκριμένο ρυθμό. Η αναγνώριση της βρουκέλλας μπορεί επίσης να επιτευχθεί με λύση από βακτηριοφάγο και με οξειδωτικό μεταβολισμό.

## ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η βρουκέλλωση οφείλεται στο αρνητικό κατά Gram, ενδοκυτταρικό βακτηρίδιο *Brucella*. Διάφορα στελέχη του βακτηριδίου μπορούν να προσβάλλουν τον άνθρωπο με συχνότερα απομονωμένη την *Brucella melitensis* που προκαλεί τη νόσο στο πρόβατο.

Τα είδη *melitensis*, *abortus* και *suis* διαιρούνται σε βιότυπους (biovars) σύμφωνα με τα βιοχημικά χαρακτηριστικά τους ή/και τις αντιδράσεις τους σε μη ειδικό A



(abortus) και M (melitensis) αντιορό. Η *Brucella melitensis* (3 biovars) προσβάλλει αιγοπρόβατα, καμήλες, η *Brucella abortus* (7 biovars) βοοειδή, βίσωνες, βουβάλια, τσακάλια, ύαινες, η *Brucella suis* (5 biovars) χοίρους, τάρανδους, λύκους, αλεπούδες, η *Brucella neotomae* τρωκτικά, η *Brucella onis* πρόβατα, η *Brucella canis* σκύλους και η *Brucella maris* φώκιες και θαλάσσια κήτη.



**Εικόνα 2: Οι βρουκέλλες στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 3900)**

### **ΜΟΛΥΝΣΗ ΣΤΑ ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΖΩΑ**

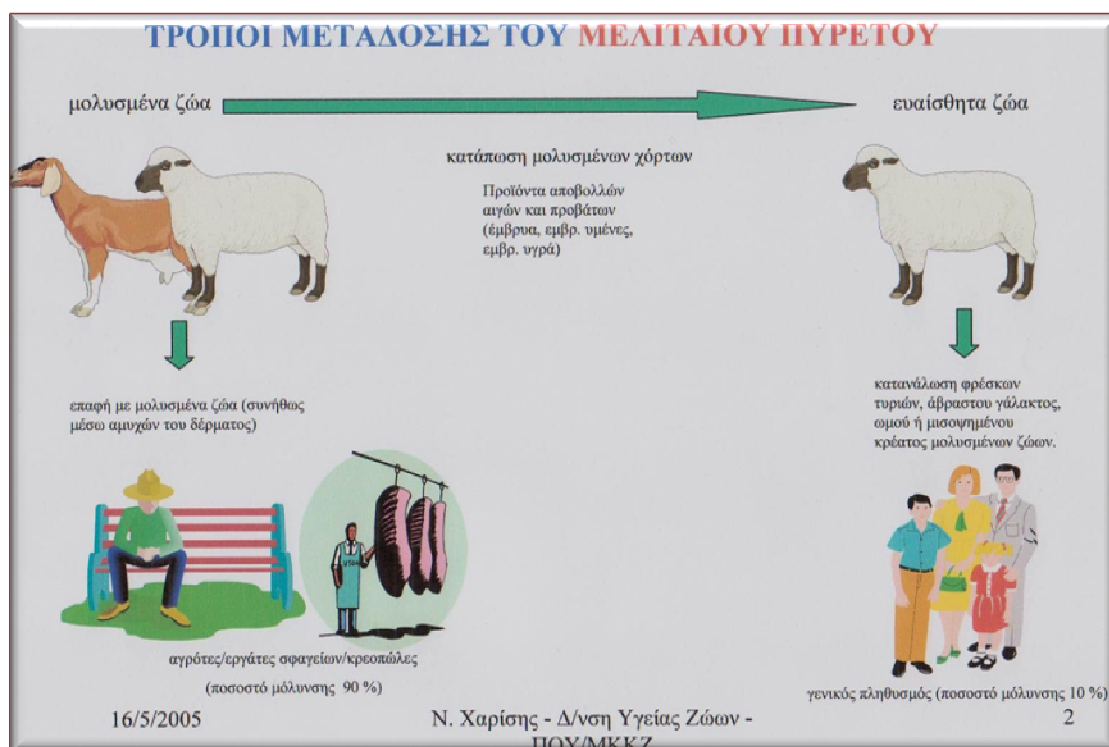
Η βρουκέλλα είναι βακτηρίδιο με μεγάλη διεισδυτική ικανότητα στον ξενιστή. Η μόλυνση μπορεί να γίνει με επαφή, από την πεπτική οδό, την αναπνευστική οδό με την εισπνοή μολυσμένης σκόνης ή σταγονιδίων, από τους βλεννογόνους των ματιών και τέλος από λύσεις συνέχειας του δέρματος οι οποίες πολλές φορές δεν θα πρέπει να είναι υποχρεωτικά και εύκολα διακριτές. Η αφροδίσια μετάδοση είναι σημαντικός επιδημιολογικός παράγοντας μετάδοσης της νόσου στους χοίρους ενώ για τα αιγοπρόβατα και τα βοοειδή δεν είναι. Σημαντικός παράγοντας μετάδοσης της νόσου είναι και η έμμεση μόλυνση στα ίδια βοσκοτόπια όπου βοσκούν ή εναλλάσσονται υγιή και μολυσμένα κοπάδια.

Τα μολυσμένα ζώα απεκκρίνουν την βρουκέλλα με τα ούρα, το γάλα, τον πλακούντα και τα λοιπά προϊόντα αποβολής ή τοκετού. Στα μικρά μηρυκαστικά που αποβάλλουν

η περίοδος απέκκρισης του μικροοργανισμού από την μήτρα είναι πιο παρατεταμένη από εκείνη των βοοειδών. Στα πρόβατα διαρκεί 60 ημέρες, ενώ στις αίγες για περισσότερο από 33 εβδομάδες. Σύμφωνα με άλλους ερευνητές ο χρόνος απέκκρισης είναι αντίστοιχα 3 εβδομάδες και 2-3 μήνες.

Η μόλυνση από βρουκέλλα, παρόλο που προσβάλλει διάφορα είδη ζώων, παρουσιάζει μια εκλεκτικότητα και ειδικότητα σε ορισμένα από αυτά. Τα βοοειδή αποτελούν βασικό ξενιστή για την *Brucella abortus*. Αντίθετα στη χώρα μας έντονη, κυρίως στα αγελαία, είναι η παρουσία της *Brucella melitensis*. Τα πρόβατα και οι αίγες, μολύνονται από την *Brucella melitensis* με τον ίδιο τρόπο όπως και τα βοοειδή. Η κάθετη μόλυνση (in utero) είναι δυνατή, αλλά τα αρνιά και τα ερίφια κατά κανόνα μολύνονται κατά τον θηλασμό από το πρωτόγαλα και το γάλα.

Οι αίγες παραμένουν μολυσμένες σε όλη τους την ζωή, ενώ στα πρόβατα η μόλυνση διαρκεί περίπου 6 μήνες. Ένα υψηλό ποσοστό μολυσμένων προβάτων, περίπου 20 % παραμένει φορέας για πολύ μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.



**Πίνακας 1:** Τρόποι μετάδοσης μελιταίου πυρετού

Στις προβατίνες που έχουν προσβληθεί από *B. onis* η διάρκεια της μόλυνσης είναι περιορισμένη και εξαφανίζεται στην επόμενη γαλουχία. Βασικός τρόπος μόλυνσης από την βρουκέλλα αυτού του είδους παραμένει το σπέρμα. Η βρουκέλλωση στους χοίρους που προκαλείται από την *B. suis* βιότυπος 1, 2 και 3 είναι σπάνια. Όσον αναφορά τον σκύλο, υπάρχει το προσαρμοσμένο είδος *B. canis* με την επικρατούσα, μέχρι σήμερα, άποψη ότι το είδος αυτό προσβάλλει αποκλειστικά τους σκύλους. Επίσης τα σκυλιά μπορεί να είναι μηχανικοί ή βιολογικοί φορείς της *B. abortus* και *B. melitensis*.

### **ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ**

Η λοίμωξη από *B. melitensis* μπορεί να χαρακτηριστεί ως ενδημική νόσος των αιγών και των προβάτων στην περιοχή της Μεσογείου και εξαπλώνεται από την Κεντρική Ασία στην Αραβική χερσόνησο και από κει ανατολικά στην Μογγολία. Επίσης αξιοσημείωτο ποσοστό μόλυνσης υπάρχει στην Λατινική Αμερική και κυρίως στο Μεξικό, την Νότια Αργεντινή και το Περού. Ακόμη η νόσος εξαπλώνεται στα περισσότερα κράτη της Αφρικής και στην Ινδία.

Η Βόρειος Αμερική με εξαίρεση το Μεξικό πιστεύεται ότι είναι απαλλαγμένη, όπως και η Βόρεια Ευρώπη (με εξαίρεση σποραδικές εισβολές από τα νότια) η Νοτιοανατολική Ασία, η Αυστραλία και η Νέα Ζηλανδία.

Ο ορότυπος 3 της *B. melitensis* θεωρείται μέχρι σήμερα ότι είναι ο επικρατέστερος βιότυπος για τις Μεσογειακές χώρες και την Μέση Ανατολή, ενώ επικρατέστερος στην Λατινική Αμερική θεωρείται ο ορότυπος 1. Ο ορότυπος 1 και 2 έχει βρεθεί σε μερικές χώρες της νοτίου Ευρώπης. Πρέπει όμως να ληφθεί υπόψη ότι ο διαχωρισμός του ορότυπου 3 από τον ορότυπο 2 δεν είναι πάντα εύκολος.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση τα παρακάτω κράτη μέλη θεωρούνται απαλλαγμένα από την *B.melitensis*: Βέλγιο, Δανία, Φιλανδία, Γερμανία, Ιρλανδία, Λουξεμβούργο, Ολλανδία, Σουηδία, Αγγλία, 17 Περιφέρειες της Γαλλίας και 2 επαρχίες της Ισπανίας.

### **ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΗΣ *B.melitensis* ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ**

Η ανθεκτικότητα ενός λοιμογόνου παράγοντα έχει ιδιαίτερη σημασία επιζωοτιολογία των λοιμωδών νόσων.

Η ικανότητα επιβίωσης της *B.melitensis* εκτός ξενιστή, σε σύγκριση με άλλα ασπορογόνα βακτήρια είναι σχετικά υψηλή, όταν βρίσκεται κάτω από κατάλληλες συνθήκες όπως  $pH > 4$ , υψηλή υγρασία, χαμηλή θερμοκρασία και απουσία κατευθείαν έκθεσης στον ήλιο. Η βρουκέλλα παραμένει λοιμογόνος για αρκετούς μήνες στο νερό, στα αποβλημένα έμβρυα και τις εμβρυικές μεμβράνες, στα κόπρανα και στα υγρά απόβλητα τους, στο μαλλί στα χορτοδέματα, στις κτηριακές εγκαταστάσεις, στα διάφορα εργαλεία και ενδύματα.

Ο χρόνος επιβίωσης της επιμηκύνεται όταν η θερμοκρασία είναι κάτω από τους  $0^{\circ}C$ . Επίσης σε παρουσία ξηραμένης οργανικής ύλης και σε μορφή σκόνης ο χρόνος επιβίωσης της διευρύνεται.

### **ΕΥΠΑΘΕΙΑ**

#### **ΗΛΙΚΙΑ**

Η μόλυνση από *B.melitensis* προκαλεί νόσηση μόνο στα ενήλικα (σεξουαλικά ώριμα) ζώα. Τα νεαρά που είναι μολυσμένα δεν έχουν έκδηλα κλινικά συμπτώματα και γενικά παρουσιάζουν μόνο μια ελαφρά και παροδική ανοσολογική απάντηση. Γενικά πάντως, η ευπάθεια αυξάνεται μετά την σεξουαλική ωρίμανση και κυρίως με την εγκυμοσύνη. Είναι αποδεκτό ότι ορισμένοι παράγοντες που δεν έχουν μελετηθεί

πλήρως επηρεάζουν την εισβολή και την διαδρομή της νόσου. Οι παράγοντες αυτοί είναι ο τρόπος εκτροφής, οι κλιματολογικές συνθήκες, η εποχή, η γαλουχία κ.α.

Οι περισσότερες φυλές των αιγών είναι πολύ ευαίσθητες, υπάρχει όμως μια διαφοροποίηση στα πρόβατα. Έχει παρατηρηθεί ότι τα παχούρα πρόβατα της Μάλτας είναι περισσότερο ευαίσθητα από τα λεπτόουρα. Ακόμη δεν υπάρχουν επιστημονικά δεδομένα για τον αυτοπεριορισμό της μόλυνσης που παρατηρείται σε ορισμένα κοπάδια ή την οξεία μόλυνση ή την λανθάνουσα επίμονη μορφή.

## **ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ**

Τα θηλυκά πρόβατα τα οποία έχουν μολυνθεί πειραματικά με ισχυρά στελέχη της *Brucella melitensis* παρατηρείται πυρετός, ανορεξία, μαστίτιδα, αρθρίτιδα και ενώ η αποβολή είναι το μόνο σύμπτωμα που παρατηρείται σε φυσική μόλυνση. Η οδός για την είσοδο του βακτηρίου είναι ο ρινοφάρυγγας. Ωστόσο η δερματική δίοδος δεν πρέπει να αποκλειστεί. Το βακτήριο διαδίδεται διαμέσου των λεμφαγγείων και συλλαμβάνεται στους λεμφαδένες. Στα ανθεκτικά στην μόλυνση πρόβατα οι βρουκέλλες σκοτώνονται από τα μακροφάγα κύτταρα, τις δραστικές μονάδες του ανοσοποιητικού συστήματος με την παρέμβαση των αντισωμάτων και των λεμφοκυττάρων. Αντίθετα στα πιο ευάλωτα στην ασθένεια ζώα το βακτήριο επιβιώνει μέσα στα φαγοκύτταρα και γι αυτό το λόγο μπορεί να αναπαραχθεί μέσα σ' αυτά.

Ακολουθώντας την λύση του φαγοκυττάρου η *Brucella* απελευθερώνεται και μολύνει άλλα κύτταρα. Η ύπαρξη βακτηρίων στο αίμα μπορεί εντέλει να αναπτυχθεί. Σε ευαίσθητα εγκυμονούντα και μη ζώα η βρουκέλλα ανιχνεύεται στο αίμα σε 30-45 ημέρες μετά την μόλυνση. Σε σεξουαλικά ώριμες και παρθένες προβατίνες, από

ενδημικά μολυσμένες περιοχές η ύπαρξη βακτηρίων στο αίμα είναι σπάνια και παρατηρείται μόνο σε μικρό αριθμό ζώων.

Στα ζώα σε κατάσταση εγκυμοσύνης το βακτήριο εισέρχεται στην μήτρα και αναπαράγεται στον πλακούντα και στους εμβρυικούς ιστούς επιφέροντας μια μολυσματική κατάσταση όχι απαραίτητα ακολουθούμενη από αποβολή. Το ποσοστό των ζώων που αποβάλλουν ποικίλλει σύμφωνα με τις συνθήκες.

Σε μη εγκυμονούντα ζώα η *Brucella* μπορεί να προκαλέσει χρόνια μόλυνση η οποία είναι επιδημιολογικής σημασίας διότι μετά από μία αρχική ορολογική αντίδραση στο ζώο η μόλυνση γίνεται μη εμφανής και έτσι δημιουργεί προβλήματα στην διάγνωση.

Σε μη εγκυμονούσες προβατίνες η *B.melitensis* απεκκρίνεται από τον κόλπο. Αντίθετα στις εγκυμονούντες προβατίνες η απέκκριση ξεκινάει την στιγμή του τοκετού ή της αποβολής και μπορεί να διαρκέσει μήνες.

Κατά την μόλυνση από *B.melitensis* ο μαστικός αδένας συχνά αποικείται και συχνά η γαλουχία σταματάει. Αυτή η μόλυνση από βρουκέλλα στο μαστό παρεμβάλλεται στην παραγωγή γάλακτος μειώνοντας έτσι την καθημερινή γαλακτοπαραγωγή. Η *Brucella* δεν απεκκρίνεται πάντα κατά την διάρκεια της γαλουχίας. Πιστεύεται ότι η μόλυνση του μαστού είναι το μέσο από το οποίο η μόλυνση επιμένει ή παραμένει στις ακόλουθες εγκυμοσύνες. Η απέκκριση των βακτηρίων μπορεί να διαρκέσει για το χρονικό διάστημα έως και 180 ημερών από τον τοκετό ή την αποβολή.

## **ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΒΡΟΥΚΕΛΛΩΣΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΩΝ**

### **ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΩΝ – ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

Η βρουκέλλωση των μικρών μηρυκαστικών οφείλεται αποκλειστικά στην *B.melitensis*. Έχουν αναφερθεί σποραδικές περιπτώσεις που προκλήθηκαν από

B.abortus αλλά στην περίπτωση αυτή η νόσος είναι σχετικά ήπια και αυτοπεριορίζεται σύντομα.

Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί 3 ορότυποι της B.melitensis, οι οποίοι διαθέτουν διαφορετικούς πολυσακχαρίτες ως επιφανειακά αντιγόνα. Ο ορότυπος που αναγνωρίζεται συνηθέστερα είναι ο 1. (Kloons and Nielsen).

Η διάγνωση της νόσου γίνεται μετά από βακτηριολογικές ή ορολογικές εξετάσεις σε παθολογικό υλικό ή ορό αίματος αντίστοιχα. Επίσης η βρουκέλλωση είναι δυνατόν να διαγνωστεί σε επίπεδο εκτροφής με την χρήση ενδοδερμικής έγχυσης βρουκελλίνης.

Η μόνη αναμφισβήτητη διάγνωση της λοίμωξης από βρουκέλλα γίνεται με την απομόνωση και ταυτοποίηση του μικροοργανισμού. Πολλές φορές όταν η βακτηριολογική εξέταση δεν είναι δυνατή, η διάγνωση βασίζεται σε ορολογικές μεθόδους. Δεν υπάρχει όμως μια μόνο ορολογική δοκιμή, με την χρήση της οποίας να μπορεί να γίνει απόλυτη διάγνωση της βρουκέλλωσης. Συνήθως χρησιμοποιείται συνδυασμός ορολογικών και βακτηριολογικών μεθόδων.

### **Άμεση διάγνωση**

### **Μικροσκοπική εξέταση**

Η απευθείας αναζήτηση της βρουκέλλα σε παθολογικά υλικά (κοτυληδόνες, κολπικό έκκριμα από προβατίνες ή αίγες που απέβαλαν, στομαχικό περιεχόμενο εμβρύου) διενεργείται μέσα από μικροσκοπική εξέταση επιχρισμάτων που έχουν χρωματιστεί με ειδική χρώση (Stamp δηλαδή την τροποποιημένη μέθοδο Ziel Neelsen). Τα βακτήρια της βρουκέλλας χρωματίζονται κόκκινα ενώ το περιβάλλον χρωματίζεται κυανό. Μορφολογικά όμως η βρουκέλλα είναι σχεδόν παρόμοια με

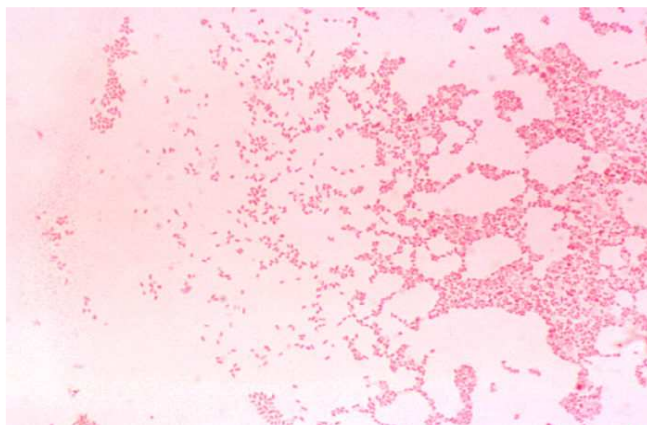
άλλα οξεάντοχα βακτήρια, όπως η *Clamychia psittaci* ή η *Coxiella burnetti* με αποτέλεσμα να προκαλούνται σφάλματα στην διάγνωση.

### **Βακτηριολογική εξέταση**

#### **Απομόνωση του βακτηρίου**

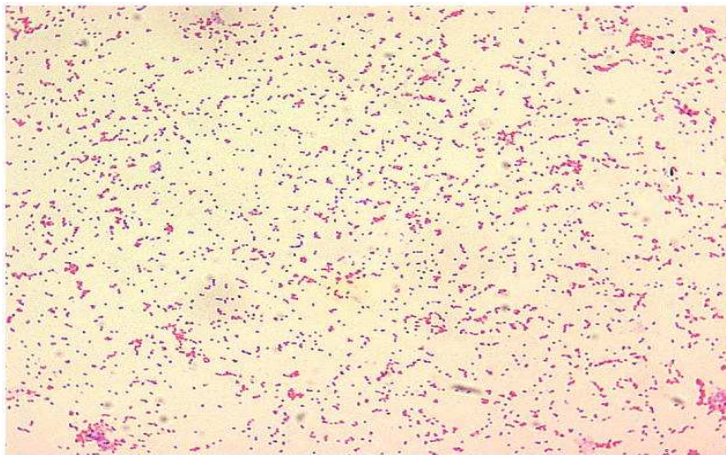
Η πλέον σίγουρη διάγνωση τίθεται με την απομόνωση του μικροοργανισμού. Το κοιλικό έκκριμα, όπως και το γάλα από προβατίνες και αίγες είναι τα καλύτερα δείγματα για την απομόνωση του μικροοργανισμού από ζωντανά ζώα. Ο σπλήνας και τα λεμφογάγγλια ( ειλιακό, μαστικό και προμηριαίο ) είναι τα πιο κατάλληλα υλικά για την απομόνωση από νεκρά ζώα. Επίσης από ζώα που απέβαλλαν το καλύτερο υλικό για την απομόνωση του βακτηρίου είναι ο πλακούντας και οι εμβρυικοί ιστοί.

Η *Brucella melitensis* είναι κοκκοβακτηρίδιο αρνητικό κατά Gram. Αναπτύσσεται κάτω από αερόβιες συνθήκες (διαφορά από την *B. abortus*, η οποία χρειάζεται ατμόσφαιρα CO<sub>2</sub> για την αρχική ανάπτυξη της) στους 37 °C. Για την ανάπτυξη της απαιτούνται τα ειδικά εμπλουτισμένα υποστρώματα Farrell's. Οι αποικίες των παθογόνων στελεχών αναπτύσσονται σε 3-5 ημέρες και είναι λείες. Οι λείες αποικίες είναι μικρές, κυρτές με ομαλή περιφέρεια και διαφανείς. Οι αδρές αποικίες (rough ) είναι επίπεδες με ανώμαλη περιφέρεια και έχουν όψη ξηρή.



**Εικόνα 3: *Brucella melitensis* μετά από χρώση Gram**





**Εικόνα 4:Brucella melitensis μετά από χρώση Gram**

Οι λείες αποικίες της βρουκέλλας έχουν την τάση να μεταπίπτουν κατά την διάρκεια της ανάπτυξης σε αδρές (rough), ιδίως μετά από ανακαλλιέργεια. Οι αλλαγές στην μορφολογία των αποικιών συνδέονται με αλλαγές στην λοιμικότητα, στις ορολογικές ιδιότητες και στην ευαισθησία έναντι των φάγων. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία στην παρασκευή εμβολίων και αντιγόνων για ορολογικές δοκιμές.



**Εικόνα 5:Αποικίες Brucella melitensis**

Τα κριτήρια στα οποία στηρίζεται η ταυτοποίηση των βρουκελλών σε είδη, βιότυπους και ορότυπους είναι η ανάγκη ή μη καλλιέργειας σε ατμόσφαιρα CO<sub>2</sub>, η παραγωγή ή μη H<sub>2</sub>S, η ανάπτυξη ή μη στις χρωστικές βασική φουξίνη και θειονίνη, η

συγκόλληση με μονοδύναμους αντιορούς A, M ΚΑΙ R, η ευαισθησία σε φάγους και ο οξειδωτικός μεταβολισμός διαφόρων αμινοξέων και σακχάρων.

Με την βακτηριολογική εξέταση είναι δυνατόν να γίνει διαχωρισμός μεταξύ των στελεχών της *B.melitensis* και του εμβολιακού στελέχους REV.1. Το εμβολιακό στέλεχος της *B. melitensis* Rev 1 έχει τις ίδιες ιδιότητες με τον βióτυπο 1 της *B. melitensis*, η ανάπτυξη του όμως στα ειδικά υποστρώματα είναι περισσότερο καθυστερημένη, δεν αναπτύσσεται παρουσία των χρωστικών βασικής φουξίνης ή θειονίνης, δεν αναπτύσσεται παρουσία της βενζινοπενικιλίνης, αλλά αναπτύσσεται παρουσία της στρεπτομυκίνης, ενώ έχει πολύ ασθενή αντίδραση στον μεταβολισμό της ουρίας. Επίσης παρουσιάζει ελαττωμένη λοιμικότητα στα ινδικά χοιρίδια και στα ποντίκια.

#### **Άλλες μέθοδοι για τη ανίχνευση του μολυσματικού παράγοντα**

Ενώ η καλλιέργεια είναι η πλέον ειδική μέθοδος, η ευαισθησία της εξαρτάται από την ικανότητα επιβίωσης του μικροοργανισμού, τον αριθμό των βακτηρίων στο δείγμα, το είδος του δείγματος ( όργανα εμβρύου, εμβρυικοί υμένες, λεμφογάγγλια κλπ ) και τον αριθμό των δειγμάτων που εξετάζονται από το ίδιο το ζώο.( Hornitzky and Searson 1986 ). Για την βακτηριολογική εξέταση ο χρόνος που απαιτείται για την καλλιέργεια των δειγμάτων είναι μεγάλος, ενώ όταν ο αριθμός των βακτηρίων μέσα στους ιστούς ή στα υγρά είναι μικρός, τότε μπορεί να μην αναπτυχθούν στην καλλιέργεια. Έτσι στην περίπτωση των ιστών ή των υγρών, τα οποία είναι μολυσμένα με μη ζωντανά ή με μικρό αριθμό μια άλλη μέθοδος, η PCR ( αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ) θα μπορούσε να αποτελέσει χρήσιμη μέθοδο για την διάγνωση της βρουκέλλωσης.

Πολλοί συγγραφείς αναφέρουν ικανοποιητική ευαισθησία της PCR για την ανίχνευση του βρουκελλικού DNA σε καθαρές καλλιέργειες. Άλλοι έδειξαν ότι η PCR είναι δυνητικά ένα χρήσιμο εργαλείο όταν χρησιμοποιείται, είτε μόνη της, είτε μαζί με σεσημασμένους δείκτες (probes) για να διαφοροποιεί τα είδη των βρουκελλών, τους βιότυπους και τους ορότυπους. Η ικανότητα της τεχνικής PCR να ανιχνεύει DNA από νεκρά βακτήρια και ακόμα από υλικά που είναι μολυσμένα με άλλους μικροοργανισμούς αυξάνει την δυνατότητα χρησιμοποίησής της για την διάγνωση της βρουκέλλωσης. Χρειάζονται όμως αρκετές μελέτες ακόμη για να υποκαταστήσει την κλασική βακτηριολογική εξέταση.

## **Έμμεση διάγνωση**

### **Αντιγόνα βρουκέλλας**

Η εξωτερική μεμβράνη του βακτηρίου περιέχει τα κύρια αντιγόνα, τα οποία προκαλούν χημική ανταπόκριση έναντι της βρουκέλλας. Όπως και σε άλλα Gram αρνητικά βακτήρια, η εξωτερική μεμβράνη των στελεχών της βρουκέλλας που βρίσκονται σε φάση λεία (smooth), αποτελείται από φωσφολιπίδια, πρωτεΐνες και λιποπολυσακχαρίτες (smooth lipopolysaccharide, S-LPS). Οι S-LPS είναι το ανοσοεπικρατούν αντιγόνο. Οι περισσότερες ορολογικές δοκιμές και ιδιαίτερα αυτές που χρησιμοποιούν ολόκληρο το κύτταρο σαν αντιγόνο, όπως η RB η CF και η ELISA έχουν αναπτυχθεί για την ανίχνευση αυτού του αντιγόνου.

Δεν υπάρχει όμως επιστημονική συμφωνία ως προς την φύση και τα χαρακτηριστικά ενός ενιαίου αντιγόνου για την διάγνωση της βρουκέλλωσης που προκαλείται από στελέχη της βρουκέλλας (*B.melitensis*, *B.abortus*, *B.suis*) σε λεία φάση. Ένα από τα σημεία σύγκρουσης αφορά την ορολογική διάγνωση της *B.melitensis* που προκαλεί μόλυνση στα μικρά μηρυκαστικά και σχετίζεται με το

είδος της βρουκέλλας και του βιότυπου που χρησιμοποιείται στην παραγωγή του διαγνωστικού αντιγόνου.

Τα εναιωρήματα του αντιγόνου (ολόκληρα κύτταρα) χρησιμοποιούνται στις ορολογικές δοκιμές RB, CF και i-ELISA παρασκευάζονται από B.abortus βιότυπος 1(ένα στέλεχος A- επικρατών), που σημαίνει ότι μολύνσεις που οφείλονται σε στελέχη M επικρατούντα (B.melitensis βιότυπος 1, B.abortus βιότυπος 4, 5 και 9, B.suis βιότυπος 5)μπορεί να μην διαγνωστούν.

### **ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ**

Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι μολύνσεις από B. melitensis και την B.abortus προκαλούν δύο διαφορετικές ασθένειες σε κάθε ευπαθές είδος ξενιστή, προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι δεν έχουν αναπτυχθεί ειδικές ορολογικές δοκιμές για την ανίχνευση της μόλυνσης των προβάτων από την Brucella melitensis. Αντί για αυτό, θεωρείται, ότι οι ορολογικές δοκιμές που χρησιμοποιούνται για την διάγνωση της μόλυνσης στα βοοειδή από την B. abortus, επαρκούν για την διάγνωση της μόλυνσης από B.melitensis στα μικρά μηρυκαστικά. Έτσι, η δοκιμή του ερυθρού της Βεγγάλης (Rose Bengal ) και η σύνδεση του συμπληρώματος είναι οι περισσότερο χρησιμοποιούμενες δοκιμές παγκοσμίως για την ορολογική διάγνωση της Βρουκέλλωσης στο πρόβατο και στην αίγα και είναι και οι επίσημες δοκιμές που χρησιμοποιούνται στα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

#### **Δοκιμή του Ερυθρού της Βεγγάλης (Rose Bengal)**

Η δοκιμή Rose Bengal αναπτύχθηκε προ εικοσαετίας για την διάγνωση της βρουκέλλωσης των βοοειδών. Παρά τις πλημμελείς και μερικές φορές αντικρουόμενες πληροφορίες που είναι διαθέσιμες, η παραπάνω δοκιμή συστήνεται

διεθνώς για την προκαταρκτική διάγνωση της βρουκέλλωσης των μικρών μηρυκαστικών.

Ως αντιγόνο για την εκτέλεση της δοκιμής Rose Bengal χρησιμοποιείται η *B.abortus* βιότυπος 1 στέλεχος 99 ή 1119-3. Οι αποικίες του στελέχους πρέπει οπωσδήποτε να βρίσκονται στην λεία φάση. Το αντιγόνο, εναιώρημα βρουκελλών, είναι χρωματισμένο με την χρωστική Rose Bengal και ρυθμισμένο σε  $\text{pH}=3,6 \pm 0,05$ .

Η δοκιμή Rose Bengal διενεργείται με σκοπό την ανίχνευση στον ορό του αίματος, αντισωμάτων που παράγονται μετά από εμβολιασμό ή φυσική μόλυνση του ζώου με βακτήρια του γένους *brucella*, με την προϋπόθεση ότι αυτά βρίσκονται σε λεία φάση. Είναι δοκιμή ταχείας οροσυγκόλλησης και αναπτύχθηκε μετά την διαπίστωση ότι η ικανότητα συγκόλλησης των μη ειδικών αντισωμάτων της κλάσης IgM με το αντιγόνο μειώνεται σημαντικά σε χαμηλό pH, ενώ η αντίστοιχη των ειδικών αντισωμάτων δεν επηρεάζεται.

Η δοκιμή θεωρείται ότι διαθέτει υψηλή ευαισθησία, όταν χρησιμοποιείται για την διάγνωση της βρουκέλλωσης στα βοοειδή. Αντίθετα θεωρείται ότι η ευαισθησία της δοκιμής δεν είναι εξίσου υψηλή στα πρόβατα και στις αίγες. Για τον λόγο αυτό η δοκιμή της Rose Bengal, όταν χρησιμοποιείται στα μικρά μηρυκαστικά αξιοποιείται ως δοκιμή για τον προσδιορισμό της υγειονομικής κατάστασης του ποιμνίου, παρά για τον προσδιορισμό των μολυσμένων ζώων.

Το αποτέλεσμα της εκφράζεται ως θετικό ή αρνητικό. Αρνητικό θεωρείται το αποτέλεσμα όταν στο μίγμα του ορού και του αντιγόνου δεν παρατηρείται σε κανένα βαθμό συγκόλληση. Θετικό θεωρείται το αποτέλεσμα, όταν παρατηρείται έστω και ίχνη συγκόλλησης. Τα θετικά δείγματα πρέπει να επιβεβαιώνονται και με άλλη ορολογική δοκιμή, η οποία θεωρείται και ως τελική.

Ένα σημαντικό πρόβλημα που επηρεάζει την ευαισθησία της δοκιμής της Rose Bengal στα μικρά μηρυκαστικά αφορά την τιτλοποίηση του αντιγόνου. Η Οδηγία της Ευρωπαϊκής Ένωσης απαιτεί εναιώρημα αντιγόνου σε γαλακτικό ρυθμιστικό διάλυμα με  $pH=3.65\pm 0.05$ , το οποίο προκαλεί συγκόλληση σε αραιώση 1/47.5 (21 UI/ml) του Διεθνούς Πρότυπου anti-B.abortus ορού (IsaBS), ενώ δίνει αρνητική αντίδραση σε αραιώση 1/55 (18.2 UI/ml) του ίδιου ορού. Οι παραπάνω συνθήκες τιτλοποίησης του αντιγόνου, οι οποίες φαίνεται να είναι κατάλληλες για την διάγνωση της μόλυνσης των βοοειδών από την B.abortus, περιορίζουν την ευαισθησία της δοκιμής, καταλήγοντας σε μειωμένη απόδοση για την διάγνωση της μόλυνσης του προβάτου από την B.melitensis. πρόσφατα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα παρόντα αποδεκτά διεθνή στάνταρ πρέπει να τροποποιηθούν για να αυξηθεί η ευαισθησία της Rose Bengal στα πρόβατα και στις αίγες. Μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν, ότι τουλάχιστον για το πρόβατο, η ευαισθησία της δοκιμής μπορεί να βελτιωθεί σημαντικά όταν τα αντιγόνα τιτλοποιηθούν έναντι ομάδας (θετικών ) ορών (θετικοί μάρτυρες), που προέρχονται από διάφορα πρόβατα που αποδεδειγμένα ήταν μολυσμένα από B.melitensis (μετά από απομόνωση του μικροοργανισμού με καλλιέργεια) και αρνητικών ορών, που προέρχονται από απαλλαγμένα από B.melitensis πρόβατα. Επίσης διαπιστώθηκε ότι η ευαισθησία της δοκιμής βελτιώνεται, όταν ο όγκος του εξεταζόμενου ορού-δείγματος αυξάνεται από 25ml σε 75 ml.

#### **Δοκιμή της σύνδεσης του συμπληρώματος**

Η δοκιμή της σύνδεσης του συμπληρώματος (CF) είναι η πλέον χρησιμοποιούμενη δοκιμή για την ορολογική επιβεβαίωση της βρουκέλλωσης στα ζώα. Όπως και στη βρουκέλλωση των βοοειδών, παρά την πολυπλοκότητα και την ετερογένεια των τεχνικών που εφαρμόζονται σε διαφορετικές χώρες, υπάρχει συμφωνία, στο ότι η

δοκιμή είναι αποτελεσματική για την ορολογική διάγνωση της βρουκέλλωσης στο πρόβατο και στην αίγα.

Το αντιγόνο που χρησιμοποιείται είναι το ίδιο που χρησιμοποιείται και στην δοκιμή της Rose Bengal, δηλαδή το στέλεχος *B. abortus* (IsaB) έτσι ώστε να δίνει 50% αιμόλυση σε διάλυση 1/200 του IsaB.

Προκειμένου τα αποτελέσματα της σύνδεσης του συμπληρώματος να αναφέρονται με ενιαίο τρόπο και να είναι συγκρίσιμα, έχει αποφασισθεί να αναφέρονται σε ‘μονάδες ευαισθητοποίησης EOK/ ανά κυβικό εκατοστού ορού’. EEC sen.Units/ml. Για τον σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ο Διεθνής ορός Αναφοράς anti *Brucella abortus* (IsaB), ο οποίος περιέχει 1000 EEC sen. Units/ml (OIE Manual 2000).

Σε περίπτωση που το αντιγόνο που χρησιμοποιείται στην δοκιμή έχει τιτλοποιηθεί, έτσι ώστε να παρατηρείται 50% αιμόλυση όταν εξετάζεται ο Διεθνής ορός Αναφοράς anti *brucella abortus* σε αραιώση 1/200, ο συντελεστής μετατροπής προσδιορίζεται ως ακολούθως: συντελεστής μετατροπής =  $1000/200=5$ . Δηλαδή εάν ένας άγνωστος ορός παρουσιάζει αιμόλυση 50% στην αραιώση 1/80 τότε οι μονάδες του είναι  $80 \times 5=400$  EES sen Units/ml. Οροί οι οποίοι δίνουν έναν τίτλο 20 EES sen Units/ml ή περισσότερο θεωρούνται θετικοί.

Η σύνδεση του συμπληρώματος είναι δοκιμή με μεγάλη αξιοπιστία, ανιχνεύει τόσο τις οξείες όσο και τις χρόνιες μορφές της νόσου, μπορεί να εφαρμοστεί σε ατομικό επίπεδο, όσον αφορά τα πρόβατα, σε αντίθεση με την Rose Begal που η αξιοπιστία της είναι μεγαλύτερη σε επίπεδο εκτροφής. Από την άλλη πλευρά, η δοκιμή της σύνδεσης του συμπληρώματος παρουσιάζει μικρά μειονεκτήματα, όπως η πολυπλοκότητα της, η ποικιλότητα των αντιδραστηρίων, το φαινόμενο της προζώνης, η αντι-συμπληρωματική δραστηριότητα του ορού, η δυσκολία διενέργειας της δοκιμής με αιμολυμένους ορούς και η υποκειμενικότητα στην ερμηνεία των χαμηλών

τίτλων. Έτσι, ενώ η ευαισθησία της δοκιμής του ερυθρού της Βεγγάλης είναι επαρκής για την επιτήρηση και τον έλεγχο απαλλαγμένων περιοχών σε επίπεδο ποιμνίου, οι δοκιμές τα Rose Bengal και της σύνδεσης του συμπληρώματος θα μπορούσαν να εφαρμοστούν σε συνδυασμό για τα μολυσμένα ποίμνια προκειμένου να αποκτηθεί υψηλή ατομική ευαισθησία σε προγράμματα ελέγχου και σφαγής.

Ένας σημαντικός ανασταλτικός παράγοντας για τις δοκιμές Rose Bengal και σύνδεσης του συμπληρώματος είναι η χαμηλή ειδικότητα τους στην περίπτωση εξετάσεις ορών προβάτων και αιγών, που προέρχονται από ζώα που έχουν εμβολιαστεί υποδόρια με το εμβόλιο Rev.1. Όμως, με την χορήγηση του εμβολίου Rev.1 στον επιπεφυκότα, το πρόβλημα της παρεμβολής μειώνεται σημαντικά σε όλες τις ορολογικές δοκιμές.

### **Ανοσοενζυμικές μέθοδοι**

Η αξία της i-ELISA είναι ισοδύναμη με την σύνδεση του συμπληρώματος στην ορολογική διάγνωση της βρουκέλλωσης των βοοειδών που προκαλείται από B.abortus. Χρησιμοποιείται δε με τα ίδια καλά αποτελέσματα για την ανίχνευση αντισωμάτων B.abortus, τόσο στον ορό, όσο και στο γάλα. Αντίθετα ελάχιστα στοιχεία είναι διαθέσιμα όσον αφορά την αξία της ELISA στην διάγνωση της B.melitensis στα μικρά μηρυκαστικά.

Όπως συμβαίνει και με άλλες ορολογικές δοκιμές, η ειδικότητα της ELISA είναι αρκετά χαμηλή κατά την εξέταση ορών που προέρχονται από ζώα εμβολιασμένα με το εμβόλιο Rev.1.

Ενώ η χρήση της ELISA για την διάγνωση της βρουκέλλωσης των βοοειδών είναι καλά ανεπτυγμένη, περισσότερο εκτεταμένες έρευνες απαιτούνται, προκειμένου να καταστεί πλήρως έγκυρη η δοκιμή που χρησιμοποιείται στα αιγοπρόβατα.



### **Δοκιμή πόλωσης φθορίζοντος του φωτός(Fluorescence Polarization Assay-FPA)**

Η δοκιμή βασίζεται στην εξής αρχή: ένα μικρό μόριο σε διάλυμα περιστρέφεται τυχαία με ρυθμό αντιστρόφως ανάλογο του μεγέθους του. Οριζόντια δέσμη πολωμένου φωτός επιτρέπει την μέτρηση, ανάλογα με την συχνότητα περιστροφής μέσω μιας δεδομένης γωνίας ( $68,5^0$ ), χρησιμοποιώντας μια προσκολλημένη φθορίζουσα ουσία. Έτσι ένα μικρό περιστρεφόμενο μόριο σε υψηλή συχνότητα θα περιστρέφεται μέσω της γωνίας ταχέως, με αποτέλεσμα χαμηλότερη πόλωση του φωτός. Εάν ένα αντίσωμα προσκολληθεί σε ένα μικρό μόριο, το αυξημένο μέγεθος θα προκαλέσει μείωση της συχνότητας περιστροφής, έχοντας ως αποτέλεσμα υψηλότερη τιμή πόλωσης του φωτός. Η δοκιμή της φθορίζουσας πόλωσης είναι πολύ απλή, γρήγορη στη χρήση, οικονομική και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ακόμα και εκτός εργαστηρίου.

Λίγες όμως πληροφορίες υπάρχουν για την εφαρμογή της δοκιμής στην ορολογική διάγνωση της βρουκέλλωσης των μικρών μηρυκαστικών.

Σε μια πρόσφατη εργασία του Nielsen όπου έγινε σύγκριση διαφόρων ορολογικών δοκιμών για την διάγνωση της βρουκέλλωσης από *B.melitensis* αναφέρεται ότι η ευαισθησία της FPA ήταν 91,5% υψηλότερη από άλλες δοκιμές (BPAT, 77,5%, CFT 83,1%, i-ELISA 90,1%, c-ELISA 76,1%. Η ειδικότητα της FPA βρέθηκε παρόμοια με άλλες δοκιμές της τάξης του 99%.

Υπολειπόμενα εμβολιακά αντισώματα συνήθως δεν προκαλούν αντίδραση στις δοκιμές c-ELISA και FPA.

Σύμφωνα με όλα τα προηγούμενα η δοκιμή FPA μπορεί να έχει μεγάλη εφαρμογή για την διάγνωση της βρουκέλλωσης των μικρών μηρυκαστικών τόσο της φυσικής μόλυνσης όσο και των εμβολιασμένων ζώων.

### Διασταυρούμενες αντιδράσεις στις ορολογικές δοκιμές

Μολύνσεις με *Yersinia enterocolitica* 0:9, τόσο στα πρόβατα όσο και στις αίγες μπορεί να προκαλέσει διασταυρούμενες αντιδράσεις στις ορολογικές δοκιμές με λεία στελέχη βρουκελλικού αντιγόνου, με τον ίδιο τρόπο που συμβαίνει και στα βοοειδή. Μέχρι τώρα δεν έχουν αναφερθεί διασταυρούμενες αντιδράσεις με άλλες βακτηριακές λοιμώξεις. Μια αλλεργική δοκιμή δέρματος χρησιμοποιώντας ελεύθερη S-LPS βρουκελλίνη, η οποία είναι ειδική για το γένος θα μπορούσε να αποβεί χρήσιμη στην διάκριση μεταξύ λοίμωξης από βρουκέλλα ή από άλλο βακτήριο.

Όταν σε ένα πληθυσμό προβάτων συνυπάρχει μόλυνση από *B.ovis* και *B.melitensis* τίθεται το ερώτημα της διασταυρούμενης αντίδρασης. Τα αντιγόνα που χρησιμοποιούνται για τις κλασσικές ορολογικές δοκιμές παράγονται από στελέχη βρουκέλλας σε λεία φάση θεωρητικά δεν θα έπρεπε να αντιδρούν με τα αντισώματα της rough *B.ovis*. Όμως σε μερικές δοκιμές έμμεσης ELISA αναφέρουν ότι μπορεί να βρεθεί διασταυρούμενη αντίδραση.

Επίσης οι αλλεργικές δοκιμές και μερικές δοκιμές ανοσοδιάχυσης σε άγαρ χρησιμοποιούν πρωτεϊνικά αντιγόνα, τα οποία είναι κοινά στα λεία και αδρά στελέχη βρουκέλλας, ανεξάρτητα από το είδος και έτσι αυτές οι δοκιμές μπορεί να δώσουν θετικό αποτέλεσμα σε πρόβατα μολυσμένα με *B.melitensis* και *B.ovis* αντίστοιχα. Αυτό το πρόβλημα δεν υπάρχει όταν εξετάζονται αίγες διότι τα ζώα αυτά δεν μολύνονται φυσικά με *B.ovis*.

### **Δοκιμές που βασίζονται στην κυτταρική τύπου ανοσία**

Ενδοδερμική δοκιμή βρουκελλίνη

Κυτταροπλασματικό αντιγόνο βρουκέλλας, γνωστό ως βρουκελλίνη, χρησιμοποιείται με ποικίλες επιτυχίες για την αλλεργική διάγνωση της βρουκέλλωσης των μικρών μηρυκαστικών.

Η δοκιμή αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ανεύρεση μόλυνσης σε επίπεδο εκτροφής, και η αντίδραση της οφείλεται στην ανάπτυξη υπερευαισθησίας επιβραδυνόμενου τύπου. Η ευαισθησία της θεωρείται γενικώς υψηλότερη από εκείνη της RB και της CF

### **Α.ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΕΛΕΓΧΟΥ ΚΑΙ ΕΚΡΙΖΩΣΗΣ ΒΡΟΥΚΕΛΛΩΣΗΣ ΣΤΑ ΜΙΚΡΑ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΑ**

Η βρουκέλλωση των αιγών και των προβάτων είναι από τις σημαντικότερες ζωνοσόους και προκαλεί σημαντική οικονομική απώλεια στους εκτροφείς μικρών μηρυκαστικών, λόγω μείωσης των παραγομένων προϊόντων τόσο σε ποσότητα όσο και σε ποιότητα. Παράλληλα η ύπαρξη της στον πληθυσμό των ζώων αποτελεί σοβαρό κίνδυνο για την δημόσια υγεία.

Για τους παραπάνω λόγους η βρουκέλλωση των μικρών μηρυκαστικών περιλαμβάνεται στους πίνακες των νοσημάτων για τα οποία εφαρμόζονται προγράμματα που στοχεύουν κατά περίπτωση στον έλεγχο ή στην εκρίζωση της νόσου.

Με τον όρο “έλεγχος” εννοείται το σύνολο των μέτρων που λαμβάνονται προκειμένου να μειωθεί ο επιπολασμός και η επίπτωση της νόσου σε επίπεδο που να μην προκαλεί πλέον σοβαρό κίνδυνο τόσο για τον πληθυσμό των ζώων που εκτρέφονται σε μια περιορισμένη περιοχή όσο και για την δημόσια υγεία.

Με τον όρο ‘εκρίζωση’ εννοούνται όλα τα μέτρα που πρέπει να ληφθούν έτσι ώστε το αποτέλεσμα του εφαρμοζόμενου προγράμματος να είναι η πλήρης εξάλειψη του λοιμογόνου παράγοντα από μια συγκεκριμένη περιοχή.

Η εξάλειψη είναι ο τελικός στόχος των προγραμμάτων που εφαρμόζονται για την βρουκέλλωση στα Κράτη μέλη της Ε.Ε αν και χαρακτηρίζονται ως προγράμματα εκρίζωσης.

Προκειμένου να αποφασιστεί η εφαρμογή ενός προγράμματος ελέγχου ή εκρίζωσης και να επιλεγούν τα κατάλληλα μέτρα που θα έχουν ουσιαστικό αποτέλεσμα, θα πρέπει να εφαρμοστούν οι αρχές της διαδικασίας λήψης αποφάσεων. Σύμφωνα με την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας η λήψη της απόφασης είναι μια διαδικασία βήμα-βήμα που ακολουθεί τα στάδια:

1. Αναγνώριση του προβλήματος
2. Συλλογή πληροφοριών
3. Ανάλυση στοιχείων
4. Αξιολόγηση της κατάστασης
5. Εφαρμογή μέτρων
6. Ανάλυση ευθυνών

Το πρώτο βήμα για την αρχή ενός προγράμματος ελέγχου και εκρίζωσης ενός νοσήματος είναι η αναγνώριση της ύπαρξης προβλήματος και η δημιουργία της πεποίθησης στους υπεύθυνους του αρμόδιου κυβερνητικού οργανισμού ότι η εφαρμογή του προγράμματος είναι απόλυτα απαραίτητη και εφικτή.

Η αναγκαιότητα της εκτέλεσης ενός προγράμματος αναγνωρίζεται μετά από επιδημιολογικές έρευνες, μετά από απαίτηση παραγωγών, μετά από απαίτηση για την δημόσια υγεία ή ακόμα και μετά από πολιτικό ενδιαφέρον.

Προκειμένου να προχωρήσει η διαδικασία για τον σχεδιασμό και την υιοθέτηση ενός προγράμματος ελέγχου ή εκρίζωσης, είναι απαραίτητη η ύπαρξη και λειτουργία ενός συστήματος επιδημιολογικής διερεύνησης και συλλογής στοιχείων. Το σύστημα επιτήρησης θα πρέπει να είναι ακριβές και ευαίσθητο, έτσι ώστε κάθε μεταβολή στον επιπολασμό και την επίπτωση της νόσου να γίνεται εγκαίρως αντιληπτή.

Εφόσον το σύστημα έχει εγκατασταθεί και λειτουργεί ικανοποιητικά, είναι δυνατό να προσδιοριστεί το μέγεθος του προβλήματος από τους υπεύθυνους και να αποφασιστεί αν είναι απαραίτητη ή όχι η εφαρμογή του προγράμματος.

Στην πρόταση που θα δημιουργηθεί πρέπει να περιγράφεται με κάθε λεπτομέρεια το μέγεθος του προβλήματος και η ζημιά που προκαλείται από την νόσο τόσο σε οικονομικό όσο και σε κοινωνικό επίπεδο.

Οι διαδικασίες και τα μέτρα που θα ληφθούν προκειμένου να τεθεί η νόσος υπό έλεγχο πρέπει να περιγραφούν και να εξηγηθούν με κάθε λεπτομέρεια στα εμπλεκόμενα μέρη. Επίσης θα πρέπει να αναλυθεί ο λόγος επιλογής συγκεκριμένων μέτρων, σε σχέση με εναλλακτικές προτάσεις και η καταλληλότητα των στρατηγικών που έχουν επιλεγεί.

Η περιοχή εφαρμογής του προγράμματος θα πρέπει να περιγράφεται με λεπτομέρεια και να λαμβάνεται υπόψη η τοπογραφία, το κλίμα και οι ιδιαιτερότητες της περιοχής.

Το σημαντικότερο και ίσως καθοριστικό για την εκτέλεση και εφαρμογή του προγράμματος είναι η ύπαρξη υποδομών. Ένα πρόγραμμα μπορεί να εκτελεστεί με επιτυχία όταν διατίθενται όλες οι υποδομές και οι απαραίτητοι οικονομικοί πόροι.

Τελικά είναι απαραίτητο να γίνει όσο το δυνατόν ακριβέστερη εκτίμηση του κόστους και των ωφελειών του προγράμματος. Το κόστος του προγράμματος περιλαμβάνει το κόστος εφαρμογής και το κόστος από την εφαρμογή. Στο κόστος

εφαρμογής περιλαμβάνονται όλες οι δαπάνες που απαιτούνται για το προσωπικό, την αγορά υλικών, την πληροφόρηση, την εκπαίδευση και τις αποζημιώσεις.

Αντίθετα το κόστος από την εφαρμογή του προγράμματος τις περισσότερες φορές δεν λαμβάνεται υπόψη και δεν εκτιμάται, με αποτέλεσμα τα προγράμματα να παρουσιάζουν δυσχέρειες στην εφαρμογή τους. Θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ότι σχεδόν πάντοτε η εφαρμογή μέτρων επηρεάζει την ομαλή λειτουργία της αγοράς, όπως επίσης και την οικονομία των εκτροφέων. Τελικά τα οφέλη που θα προκύψουν από το πρόγραμμα, θα πρέπει να περιγράφονται και να εκτιμώνται με κάθε λεπτομέρεια και να γίνονται ευρέως γνωστά.

Πριν από την εφαρμογή του προγράμματος θα πρέπει να εξασφαλιστεί η εξουσιοδότηση για την εφαρμογή του, η νομοθετική του κάλυψη, όπως επίσης και η συνεχής χρηματοδότηση και η ύπαρξη των απαραίτητων πόρων και υποδομών μέχρι της επίτευξης του τελικού στόχου.

Ο κύριος κορμός ενός προγράμματος ελέγχου ή εξάλειψης μιας ζωνόσου είναι η στρατηγική και τα μέτρα που λαμβάνονται και απορρέουν από την επιδημιολογία της συγκεκριμένης νόσου.

Τα μέτρα που εφαρμόζονται σε κάθε πρόγραμμα γενικότερα στοχεύουν:

1. Στην προστασία των ελεύθερων εκτροφών από την εισαγωγή της μόλυνσης
2. Στον έλεγχο και την εξάλειψη των πηγών μόλυνσης
3. Στον περιορισμό της επέκτασης των εστιών μόλυνσης

Προκειμένου να προστατευθούν οι ελεύθερες εκτροφές από την εισαγωγή της νόσου εφαρμόζονται μόνο μέτρα ελέγχου. Για τον συγκεκριμένο στόχο πρέπει να δημιουργηθούν φραγμοί για την είσοδο της νόσου στην εκτροφή. Προκειμένου μια εκτροφή να προστατευθεί, θα πρέπει να είναι κλειστή. Η διακίνηση ανθρώπων και οχημάτων να είναι περιορισμένη και να απαγορεύεται η εισαγωγή υλικών, τα οποία

πιθανόν να είναι μολυσμένα και να εισάγουν τον μολυσμένο παράγοντα. Επίσης τα ζώα που εισάγονται θα πρέπει να είναι αποδειγμένα υγιή και να προέρχονται από εκτροφή που να μην έχει εμπειρία της νόσου. Παράλληλα θα πρέπει να υφίστανται όλες οι προϋποθέσεις που να απαγορεύουν την είσοδο στην εκτροφή άγριων ζώων ή άλλων ζώων που δυνητικά θα μπορούσαν να εισάγουν την νόσο. Είναι γεγονός ότι πλήρης απομόνωση της εκτροφής δεν είναι δυνατόν να επιτευχθεί αλλά με τα κατάλληλα μέτρα είναι δυνατόν να μειωθούν στο ελάχιστο οι πιθανότητες εισόδου της νόσου σε μια υγιή εκτροφή, ειδικά όταν το νόσημα έχει απλή επιδημιολογία και δεν μεταδίδεται με ενδιάμεσους φορείς ή αερογενώς.

Παράλληλα με την προστασία των υγιών εκτροφών θα πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την εξάλειψη των εστιών μόλυνσης.

Η εξάλειψη των πηγών μόλυνσης επιτυγχάνεται με:

1. Ολοκληρωτική σφαγή των ζώων της εκτροφής ή
2. Την απομάκρυνση των μολυσμένων ζώων ή
3. Την απομόνωση των μολυσμένων εκτροφών χωρίς την λήψη μέτρων

Με τον όρο “ολοκληρωτική σφαγή” εννοείται η πλήρης εξαφάνιση των μολυσμένων ζώων, όπως επίσης και αυτών που έχουν έλθει σε επαφή με αυτά και πιθανόν να βρίσκονται σε περίοδο επώασης.

Η πλήρης σφαγή των ζώων μιας εκτροφής εφαρμόζεται συνήθως για την εξάλειψη εστιών μόλυνσης σε νοσήματα με μικρή περίοδο επώασης και μεγάλη μεταδοτικότητα. Η στρατηγική αυτή βρίσκει εφαρμογή και για την εξάλειψη νοσημάτων με εξαιρετικά μακρά περίοδο επώασης.

Όσο αφορά τις ζωνόσους η ολοκληρωτική σφαγή των ζώων εφαρμόζεται σε περιπτώσεις που εξαιτίας της έκτασης της μόλυνσης δεν είναι δυνατή η εφαρμογή άλλης στρατηγικής, όταν επιζητείται η ταχύτερη εξάλειψη των πηγών μόλυνσης,

προκειμένου να χαρακτηριστεί μια περιοχή ως απαλλαγμένη του νοσήματος και σε περίπτωση που η εστία η οποία εξαλείφεται, είναι η πρώτη που έχει εμφανιστεί σε μια περιοχή απαλλαγμένη της νόσου.

Σε ορισμένες περιπτώσεις η εξάλειψη των πηγών μόλυνσης μπορεί να επιτευχθεί μόνο με απομάκρυνση των μολυσμένων ζώων. Η στρατηγική αυτή είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική, όταν ο μολυσματικός παράγοντας δεν είναι ιδιαίτερα λοιμογόνος, η περίοδος επώασης είναι σχετικά μεγάλη, και το ζώο παρουσιάζει ανοσολογική ανταπόκριση κατά την διάρκεια της περιόδου επώασης.

Επίσης σε ορισμένες περιπτώσεις οι πηγές μόλυνσης είναι δυνατόν να εξαλειφθούν χωρίς να ληφθεί κανένα μέτρο. Η στρατηγική αυτή μπορεί να εφαρμοστεί μόνο σε ειδικές περιπτώσεις και για ειδικά νοσήματα που τα νοσούν τα ζώα είτε πεθαίνουν είτε ιώνται και δεν μετατρέπονται σε φορείς οι οποίοι μπορούν να διασπείρουν τον λοιμογόνο παράγοντα.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η στρατηγικές που αποσκοπούν στην εξάλειψη των πηγών μόλυνσης προϋποθέτουν καλή οργάνωση του φορέα που αναλαμβάνει την εφαρμογή τους, την ύπαρξη επαρκών οικονομικών πόρων για την αποζημίωση, τόσο των ζώων όσο και της παραγωγής που χάνεται, την ύπαρξη ικανού αριθμού υγιών ζώων που θα αντικαταστήσουν αυτά που απομακρύνονται, όπως και την ύπαρξη όλων των απαραίτητων στοιχείων και της κατάλληλης νομοθεσίας που απαιτούνται για την εφαρμογή των μέτρων. Το πλεονέκτημα των παραπάνω στρατηγικών είναι ότι οδηγούν σε εκρίζωση της νόσου.

Στις περισσότερες των περιπτώσεων όμως δεν είναι επαρκή τα μέτρα που εφαρμόζονται για την εξάλειψη των πηγών μόλυνσης για να τεθεί υπό έλεγχο ένα νόσημα και απαιτούνται παράλληλα, μέτρα για την μείωση της επέκτασης της μόλυνσης.



Ο στόχος αυτός επιτυγχάνεται με την λήψη υγειονομικών μέτρων στις εστίες μόλυνσης με την απομόνωση των φορέων, την εφαρμογή απολυμάνσεων, πιθανόν την αλλαγή στην πρακτική διαχείρισης έτσι ώστε να περιοριστούν στο ελάχιστο οι πιθανότητες διασποράς και η μόλυνση να περιοριστεί στο συγκεκριμένο χώρο. Τα μέτρα που λαμβάνονται για τον σκοπό αυτό επιλέγονται μετά από άριστη γνώση της επιδημιολογίας της νόσου, όπως επίσης και γνώση των παραγόντων που ευνοούν την διασπορά του λοιμογόνου παράγοντα.

Παράλληλα με τα μέτρα που θα ληφθούν για τον περιορισμό της διασποράς της νόσου μπορεί να ληφθούν μέτρα για την αύξηση της ανθεκτικότητας των ευαίσθητων ζώων στο λοιμογόνο παράγοντα. Η αύξηση της ανθεκτικότητας των ευαίσθητων ζώων επιτυγχάνεται είτε με την χρήση φαρμακευτικών σκευασμάτων, είτε με τη χρήση εμβολίων.

Τα μέτρα που έχουν ως στόχο τον περιορισμό της επέκτασης της νόσου μπορεί να εφαρμοστούν σε ορισμένες περιπτώσεις μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με μέτρα που έχουν ως στόχο την εκρίζωση της νόσου.

Ο συνδυασμός των μέτρων εφαρμόζεται συνήθως σε περιπτώσεις όπου ο επιπολασμός της νόσου είναι υψηλός και η εφαρμογή των μέτρων εκρίζωσης έχει μεγάλο οικονομικό κόστος ή δημιουργεί σοβαρό κοινωνικό πρόβλημα. Η εφαρμογή συνδυασμένων μέτρων προϋποθέτει μεγαλύτερη διάρκεια του προγράμματος εκρίζωσης και συνεχή επιτήρηση και αξιολόγηση της κατάστασης της περιοχής, έτσι ώστε να αποδεικνύεται η αποδοτικότητα των μέτρων.

Ειδικότερα για τη βρουκέλλωση των μικρών μηρυκαστικών οι στρατηγικές που έχουν αναπτυχθεί για τον έλεγχο και στην συνέχεια την εκρίζωση της νόσου υιοθετούν τις παραπάνω γενικές αρχές και στηρίζονται στην γνώση της παθογένεσης και της επιδημιολογίας της νόσου, η οποία μπορεί να είναι διαφορετική από περιοχή

σε περιοχή και να επηρεάζεται από πολλούς και διαφορετικούς παράγοντες, ανάλογα με την πρακτική διαχείρισης που εφαρμόζεται το είδος των ζώων και τον τύπο της εκτροφής.

Ο ασφαλέστερος και ταχύτερος τρόπος για την εκρίζωση της βρουκέλλωσης στα μικρά μηρυκαστικά είναι η ολοκληρωτική σφαγή των μολυσμένων ποιμνίων. Από μελέτες που έγιναν υπολογίστηκε ότι ελάχιστες χώρες του κόσμου διαθέτουν τους πόρους και τις υποδομές προκειμένου να εφαρμοστεί η παραπάνω στρατηγική.

Σε περιοχές όπου η εκτροφή των προβάτων είναι εντατικής μορφής, το σύνολο των ζώων εκτρέφονται σε μονάδες οργανωμένες, χωρίς να μετακινούνται, υπάρχει αξιόπιστο σύστημα αναγνώρισης των ζώων το ποσοστό μόλυνσης μεταξύ των ποιμνίων είναι χαμηλό και ο μέσος όρος του αριθμού των ζώων σε κάθε ποίμνιο είναι σχετικά μικρός, είναι εφικτή η εκρίζωση της νόσου με την εφαρμογή του ελέγχου και της σφαγής των οροθετικών ζώων.

Η στρατηγική αυτή προτείνεται να εφαρμόζεται όταν ο επιπολασμός της νόσου σε μια περιοχή είναι μικρότερος του 2%. Μέχρι σήμερα με την εφαρμογή της μεθόδου αυτής η βρουκέλλωση των μικρών μηρυκαστικών έχει εκριζωθεί μόνο από ορισμένες περιοχές και ειδικά από νησιά. Ακόμα και με αυτές τις προϋποθέσεις η εκρίζωση της νόσου με αποκλειστική εφαρμογή του ελέγχου και σφαγής είναι δύσκολη και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το μέγεθος του ποιμνίου. Έχει αποδειχτεί ότι σε ποίμνια με μεγάλο αριθμό ζώων η εκρίζωση είναι δύσκολη και τελικά οδηγεί στην σφαγή του μεγαλύτερου ποσοστού των ζώων του ποιμνίου.

Σε περιοχές όπου τα μολυσμένα ποίμνια είναι σε ποσοστό μεγαλύτερο του 2% και ο αριθμός των ζώων που εκτρέφονται σε κάθε ποίμνιο είναι σχετικά μεγάλος, τότε η εφαρμογή αποκλειστικά της μεθόδου ελέγχου και σφαγής των οροθετικών ζώων δεν είναι εφαρμόσιμη διότι είναι αντιοικονομική και δεν δίνει ουσιαστικά αποτελέσματα.

Για την αύξηση της αντίστασης των ζώων εφαρμόζεται εμβολιασμός των νεαρών ζώων σε ηλικία 3-6 μηνών με εμβόλιο που περιέχει το στέλεχος της *B.melitensis* Rev 1 μειωμένης λοιμογόνου δύναμης.

Ο συνδυασμός των παραπάνω στρατηγικών αποδίδει, εφόσον ο πληθυσμός των ζώων δεν είναι εξαιρετικά μεγάλος, υπάρχει αξιόπιστο σύστημα αναγνώρισης των ζώων, ελέγχονται απόλυτα οι μετακινήσεις των ζώων, ο φορέας που έχει αναλάβει την εφαρμογή των στρατηγικών αλλά και τον έλεγχο της τήρησης των παράπλευρων μέτρων που απαιτούνται είναι απόλυτα οργανωμένος και το ανθρώπινο δυναμικό και οι οικονομικοί πόροι είναι επαρκείς.

Σε περιπτώσεις όμως που το ποσοστό μόλυνσης μεταξύ των ποιμνίων σε μια περιοχή είναι μεγαλύτερο του 5%, τότε ο έλεγχος και η εκρίζωση της νόσου είναι εξαιρετικά δύσκολος. Τα προβλήματα, τα οποία δημιουργούνται από τα μέτρα που προβλέπονται είναι σοβαρά και πολλές φορές δυσβάστακτα για τους εκτροφείς. Η παραγωγή επηρεάζεται σημαντικά και πιθανόν δημιουργούνται τόσο οικονομικά όσο και κοινωνικά προβλήματα.

Μέχρι πρότινος η στρατηγική που εφαρμόστηκε σε όλες τις Μεσογειακές χώρες και στην Ελλάδα ήταν ο εμβολιασμός των ανηλίκων ζώων που διατηρούνταν για αναπαραγωγή σε ηλικία 3-6 μηνών με υποδόρια έγχυση του εμβολίου Rev-1.

Η επιλογή της παραπάνω στρατηγικής στηρίχθηκε στην θεωρητική προσέγγιση ότι η παραγωγική ζωή των αιγών και των προβάτων είναι 5-6 έτη. Λαμβάνοντας υπόψη το παραπάνω, θεωρητικά το σύνολο των ζώων μια εκτροφής και κατ' επέκταση μιας περιοχής θα αποτελείται από εμβολιασμένα ζώα επομένως ανθεκτικά, μετά από 5-6 έτη εφαρμογής του εμβολιασμού.

Δυστυχώς στην πράξη αποδείχτηκε ότι η στρατηγική αυτή αποδίδει μετά από την εφαρμογή της για περισσότερο από 10 χρόνια και στις περισσότερες χώρες η νόσος επανήλθε σε υψηλά επίπεδα μόλις σταμάτησε η εφαρμογή του εμβολιασμού.

Οι λόγοι αποτυχίας της στρατηγικής αυτής είναι πολλοί και διαφορετικοί, οι κυριότεροι όμως που έχουν προσδιοριστεί και είναι αποδεκτοί διεθνώς είναι οι ακόλουθοι:

- Το ποσοστό εμβολιακής κάλυψης των νεαρών ζώων εξαρτάται απόλυτα από το σύστημα εκτροφής. Όπου το σύστημα εκτροφής είναι ημικτατικό και τα ποίμνια μετακινούνται σε θερινούς βοσκότοπους το ποσοστό εμβολιακής κάλυψης των νεαρών ζώων παραμένει χαμηλό.
- Επίσης το ποσοστό εμβολιακής κάλυψης των νεαρών ζώων εξαρτάται και σε μεγάλο βαθμό από την εποχικότητα των τοκετών
- Η παράταση της παραγωγικής ζωής των ζώων πέραν των 5-6 ετών που ορίζεται θεωρητικά

Επίσης σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν το επίπεδο προστασίας των ζώων σε μια εκτροφή είναι:

- Η ποιότητα των εμβολίων που χρησιμοποιούνται
- Ο τρόπος συντήρησης, μεταφοράς και χρήσης των εμβολίων

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω θεωρήθηκε ότι για να επιτευχθεί ο ταχύτερος έλεγχος και εκρίζωση της νόσου είναι απαραίτητη η ταχύτατη ανοσοποίηση των ζώων σε μια περιοχή. Για την επίτευξη του παραπάνω στόχου προτάθηκε ο εμβολιασμός ενηλίκων και ανήλικων ζώων με υποδόρια χορήγηση του εμβολίου Rev-1 σε κανονική ή μειωμένη δόση.

Ο εμβολιασμός των ενηλίκων ζώων με μειωμένη δόση εμβολίου αποδείχθηκε αναποτελεσματικός, διότι δεν υπάρχει επαρκή προστασία του εμβολιασμένου ζώου

και εγκαταλείφθηκε. Εναλλακτικά εφαρμόστηκε εμβολιασμός των ενηλίκων υποδόρια με κανονική δόση εμβολίου. Διαπιστώθηκε όμως ότι τα εμβολιασμένα ζώα παραμένουν οροθετικά για μεγάλο χρονικό διάστημα και, όταν εμβολιάζονται ζώα σε κατάσταση εγκυμοσύνης προκαλούνται αποβολές στο σύνολο του. Στις περιπτώσεις αυτές το εμβολιακό στέλεχος απεκκρίνεται με το γάλα και με τα εκκρίματα της μήτρας στο περιβάλλον και μπορεί να προκληθούν κλινικά συμπτώματα σε υγιή ζώα που είναι σε στενή επαφή.

Προκειμένου να μειωθούν τα σοβαρά αυτά μειονεκτήματα άρχισαν από το 1985 δοκιμές με την χορήγηση του εμβολίου Rev-1 σε κανονική δόση δια της οφθαλμικής οδού. Ο εμβολιασμός τόσο των ενηλίκων όσο και των ανηλίκων δια της οφθαλμικής οδού αποδείχθηκε πολύ αποτελεσματικός και με πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τον υποδόριο εμβολιασμό.

- Η προστασία που παρέχεται στο ζώο είναι η ίδια και διαρκεί όσο αυτή που προσφέρεται με τον υποδόριο εμβολιασμό
- Τα εμβολιασμένα ζώα το αργότερο εντός 20 εβδομάδων από τον εμβολιασμό γίνονται οροαρνητικά. Επομένως εύκολα μπορεί να εφαρμοστεί το πρόγραμμα εκρίζωσης
- Η οφθαλμική χορήγηση του εμβολίου δεν προκαλεί καμιά παρενέργεια ή αντίδραση στο ζώο. Δεν έχει παρατηρηθεί ερεθισμός των οφθαλμών ή αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος
- Δεν έχει διαπιστωθεί απέκκριση του εμβολιακού στελέχους από το γάλα και σε ειδικές περιπτώσεις που έχει αναφερθεί δεν αποτελεί κίνδυνο για την δημόσια υγεία
- Η μόλυνση του περιβάλλοντος είναι ελάχιστη ως αμελητέα
- Η εφαρμογή του εμβολίου είναι ευκολότερη

- Ο τρόπος αυτός εμβολιασμού θεωρείται ασφαλέστερος για τον χειριστή. Όπου εφαρμόστηκε αυτός ο τρόπος εμβολιασμού δεν έχουν αναφερθεί μολύνσεις κτηνιάτρων.

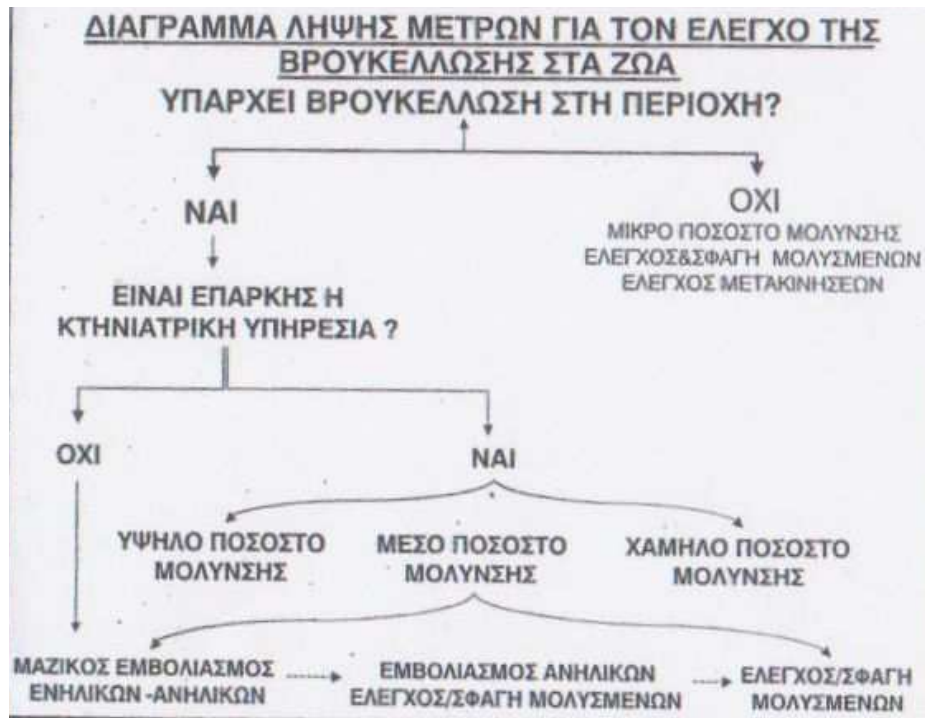
Το μειονέκτημα όμως της οφθαλμικής χορήγησης του εμβολίου Rev-1 είναι ότι δεν είναι αρκετά ασφαλές για τα έγκυα ζώα. Προκειμένου ο εμβολιασμός να είναι ασφαλής, συνιστάται να εμβολιάζονται ενήλικα ζώα τα οποία είναι στην γαλακτοπαραγωγή και πριν από την οχρεία.

Εφόσον τηρούνται αυτές οι προφυλάξεις, ο οφθαλμικός εμβολιασμός των ενηλίκων και ανηλίκων αιγών και προβάτων θεωρείται ως ο ιδανικός εμβολιασμός σε περιοχές με υψηλό ποσοστό μόλυνσης μεταξύ των ποιμνίων και θεωρείται ως ο μόνος τρόπος για τον έλεγχο της νόσου σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Από το 1995 η μέθοδος αυτή εμβολιασμού εφαρμόστηκε με εξαιρετική επιτυχία τόσο στην Γαλλία όσο και στην Ισπανία και τα τελευταία χρόνια εφαρμόζεται στην Ελλάδα και στην Πορτογαλία. Στις περισσότερες χώρες του κόσμου όπου εφαρμόζεται ο εμβολιασμός κατά της βρουκέλλωσης ο υποδόριος εμβολιασμός των μικρών μηρυκαστικών έχει εγκαταλειφθεί.

Η επιλογή όμως της στρατηγικής δεν είναι αποκλειστικά θέμα επιπολασμού της νόσου. Για την επιλογή της θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και άλλοι καθοριστικοί παράγοντες.

Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας προτείνει την χρήση του ακόλουθου διαγράμματος που συμβάλει στην επιλογή της καταλληλότερης στρατηγικής για την αντιμετώπιση της νόσου.

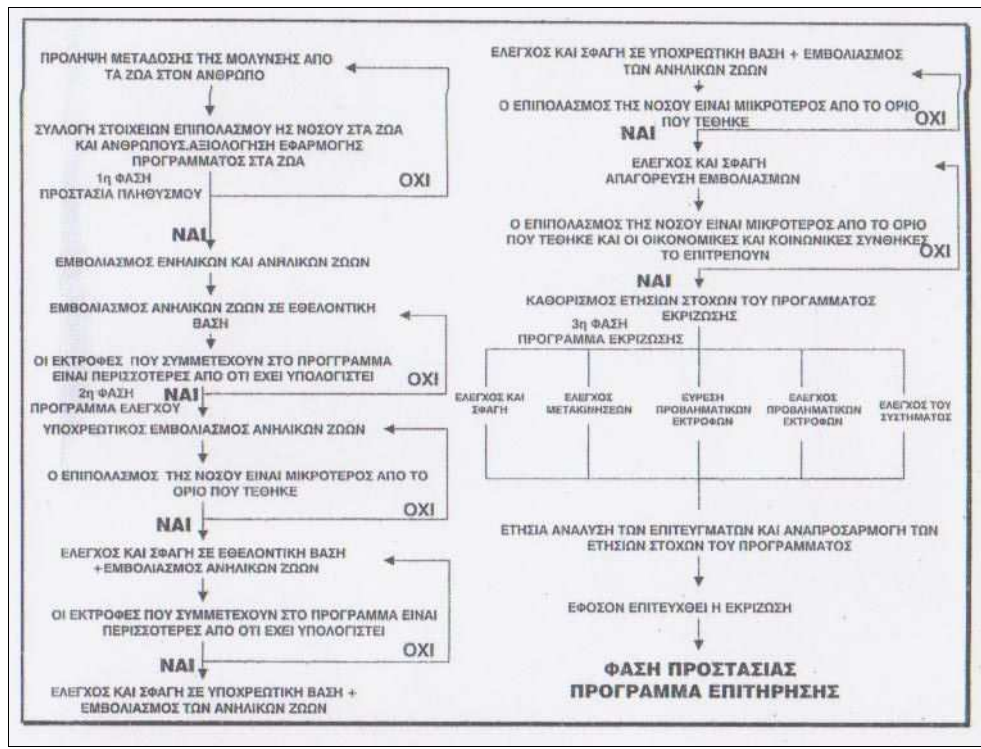


**Διάγραμμα 1: Λήψη μέτρων για τον έλεγχο της βρουκέλλωσης**

Η εκρίζωση της βρουκέλλωσης στα μικρά μηρυκαστικά είναι μια μακρά και επίπονη διαδικασία, η οποία απαιτεί καλή οργάνωση όλων των μερών που εμπλέκονται στην διαδικασία.

Αν και φαινομενικά είναι μια απλή διαδικασία, διότι η επιδημιολογία της νόσου είναι σχετικά απλή και η μετάδοση και η διασπορά του λοιμογόνου παράγοντα γίνεται κυρίως με την επαφή, εντούτοις η ποικιλία των παραγόντων που επηρεάζουν την εφαρμογή των μέτρων, όπως επίσης και το εφαρμοζόμενο σύστημα εκτροφής των μικρών μηρυκαστικών καθιστούν την εκρίζωση της νόσου εξαιρετικά δύσκολη.

Η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας θεωρεί ότι για να επιτευχθεί η εκρίζωση της νόσου, το εφαρμοζόμενο πρόγραμμα θα πρέπει να εφαρμοστεί σε στάδια, σύμφωνα με το ακόλουθο διάγραμμα.



**Διάγραμμα 2: Στάδια εκρίζωσης της νόσου**

Από την μελέτη των φάσεων του διαγράμματος προκύπτει ότι σε κάθε φάση θα πρέπει να εφαρμόζονται διαφορετικά μέτρα και το σημαντικότερο με διαφορετική ένταση. Θα πρέπει να τονιστεί ότι στα αρχικά στάδια εφαρμογής του προγράμματος η βελτίωση της κατάστασης όσον αφορά τον επιπολασμό της νόσου είναι θεαματική ενώ στα τελικά στάδια η βελτίωση είναι εξαιρετικά βραδεία και περισσότερο δαπανηρή σε σχέση με τα αρχικά στάδια.

Όσον αφορά την χώρα μας το πρόγραμμα για τον έλεγχο της βρουκέλλωσης άρχισε το 1975. Η στρατηγικά που επιλέχθηκε ήταν ο εμβολιασμός των νεαρών αμνών και εριφίων σε ηλικία 3-6 μηνών με υποδόρια χορήγηση του εμβολίου Rev-1 και σε δόση  $1 \times 10^{10}$  cfu/ml, η οποία και εφαρμόστηκε μέχρι το 1991 σε ορισμένες περιοχές και σε άλλες μέχρι το 1994.

Μετά από εκτίμηση της κατάστασης που είχε διαμορφωθεί το 1988-89 λήφθηκε η απόφαση να σταματήσει η χρήση του εμβολίου και να αρχίσει η εφαρμογή



αποκλειστικά μέτρων για την εκρίζωση της νόσου. Έτσι το 1992 στα νησιά και το 1994 στην υπόλοιπη χώρα, άρχισε να εφαρμόζεται το πρόγραμμα εκρίζωσης της νόσου με τον ορολογικό έλεγχο και την σφαγή των οροθετικών ζώων.

Όπως αποδείχτηκε εκ των υστέρων η απόφαση για την αναστολή του εμβολιασμού λήφθηκε πολύ πρόωρα και χωρίς να εκτιμηθούν επαρκώς οι παράγοντες που επηρεάζουν τόσο την επιδημιολογία της νόσου, όσο και την αποτελεσματικότητα των μέτρων που εφαρμόζονται για την εκρίζωση.

Επίσης η αναστολή του εμβολιασμού αποφασίστηκε χωρίς να ληφθούν υπόψη η οργάνωση, το μέγεθος και οι υποχρεώσεις της Κτηνιατρικής Υπηρεσίας που ανέλαβε το έργο της εκρίζωσης, η επάρκεια των μέσων και των οικονομικών πόρων που απαιτούνταν για το εγχείρημα αυτό, η γεωγραφία της χώρας, το επίπεδο εκπαίδευσης και ενημέρωσης εκτροφέων, το σύστημα και οι συνθήκες εκτροφής των μικρών μηρυκαστικών και οι πρακτικές διαχείρισης που εφαρμόζονται στην χώρα μας και ειδικά η έκταση των μετακινήσεων σε θερινούς βοσκότοπους.

Μετά από την εφαρμογή του προγράμματος εκρίζωσης μέχρι το 1996 διαπιστώθηκε ότι η νόσος όχι μόνο δεν ήταν υπο έλεγχο αλλά τα μολυσμένα ποίμνια αυξάνονταν δραματικά, όπως επίσης και τα κρούσματα βρουκέλλωσης στους ανθρώπους.

Πρέπει να τονιστεί ότι τα κρούσματα στους ανθρώπους, ιδιαίτερα δε στις ομάδες υψηλού κινδύνου, είναι ο πλέον ευαίσθητος δείκτης για την κατάσταση της βρουκέλλωσης στο ζωικό κεφάλαιο.

Για το έτος 1997 έγινε αναθεώρηση του προγράμματος, επανήλθε ο εμβολιασμός και παράλληλα καταβλήθηκε προσπάθεια να μειωθεί η πηγή μόλυνσης του περιβάλλοντος. Η στρατηγική αυτή, εγκρίθηκε από τους εμπειρογνώμονες της Ε.Ε και χρηματοδοτήθηκε κατά 50%.

Μετά την εφαρμογή του προγράμματος για δύο χρόνια διαπιστώθηκε ότι το πρόβλημα ήταν πολύ πιο σοβαρό από ότι είχε αρχικά εκτιμηθεί.

Η βρουκέλλωση έδειχνε σαφείς τάσεις αύξησης μεταξύ των ποιμνίων των αιγών και των προβάτων και ο επιπολασμός της νόσου ήταν σε πολύ υψηλό επίπεδο. Παράλληλα τα κρούσματα στους ανθρώπους συνεχώς αυξάνονταν.

Μόνο στα νησιά ο επιπολασμός της νόσου μεταξύ των ποιμνίων παρέμεινε χαμηλός στο 15% .

Από την εκτίμηση της κατάστασης όπως αυτή διαμορφώθηκε το 1998, θεωρήθηκε ότι η μόνη ενέργεια που θα ήταν η ενδεδειγμένη και θα είχε ταχύτερα αποτελέσματα στον έλεγχο της νόσου, ήταν η εφαρμογή μαζικού εμβολιασμού ενηλίκων και ανήλικων ζώων με οφθαλμική χορήγηση του εμβολίου.

Το πρόγραμμα που προτάθηκε από την Ελλάδα, εγκρίθηκε από τα Κράτη Μέλη της Ε.Ε και έτυχε της υποστήριξης της Επιτροπής, η οποία και χρηματοδοτεί την εφαρμογή του σε ποσοστό 50% και προβλέπει :

- Την εκρίζωση της νόσου στα νησιά με τον έλεγχο και την σφαγή των οροθετικών
- Τον έλεγχο της νόσου με μαζικό εμβολιασμό στην υπόλοιπη χώρα

Φορείς υπεύθυνοι για την εφαρμογή του προγράμματος είναι:

Α) Το Τμήμα Υγείας των Ζώων της Δ/σης Κτηνιατρικής (ΤΥΖΔΚ) κάθε νομού είναι υπεύθυνο για την οργάνωση, τον συντονισμό και τον έλεγχο της εφαρμογής του προγράμματος, όπως επίσης και για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της εφαρμογής του στο νομό. Επιπλέον το παραπάνω Τμήμα είναι υπεύθυνο για τη συλλογή των στοιχείων που αφορούν στην εφαρμογή του προγράμματος στην περιοχή, την αποστολή όλων των σχετικών πληροφοριών στο Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων της Δ/σης Υγείας των Ζώων του υπουργείου Αγροτικής

Ανάπτυξης και Τροφίμων και την εισήγηση για την έκδοση όλων των σχετικών αποφάσεων που αφορούν στην εφαρμογή του προγράμματος σε επίπεδο νομού.

Τα Αγροτικά Κτηνιατρεία (ΑΚ) σε κάθε νομό είναι υπεύθυνα για την εφαρμογή του προγράμματος, τον έλεγχο της σήμανσης των ζώων, τη σήμανση των μολυσμένων ζώων, την τήρηση των μητρώων των εκτροφών, όλων των απαραίτητων δελτίων που αφορούν στην εφαρμογή του προγράμματος και προβλέπονται από τις σχετικές διατάξεις και την έκδοση των σχετικών υγειονομικών πιστοποιητικών για την μετακίνηση των ζώων ή των εκτροφών.

Β) Το Τμήμα Ζωοανθρωπονόσων της Δ/σης Υγείας των Ζώων της Γενικής Δ/σης Κτηνιατρικής είναι υπεύθυνο για τον συντονισμό, τον έλεγχο και την επιδημιολογική αξιολόγηση της πορείας του προγράμματος σε ολόκληρη τη χώρα και ειδικότερα σε κάθε Δ/ση Κτηνιατρικής των νομών που εμπλέκονται στην εφαρμογή αυτού του προγράμματος. Το ίδιο τμήμα συγκεντρώνει, επεξεργάζεται στατιστικά, αναλύει επιδημιολογικά και αξιολογεί τα στοιχεία του προγράμματος. Στην αρμοδιότητά του είναι η παροχή όλων των πληροφοριών στις υπηρεσίες της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

## **B.ΕΜΒΟΛΙΑ ΚΑΙ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ**

Ο εμβολιασμός των προβάτων και των αιγών είναι το μόνο πρακτικό και αποτελεσματικό μέσο για την μείωση του ποσοστού των μολυσμένων ζώων σε πολλές αναπτυσσόμενες χώρες, καθώς και σε χώρες μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, στις οποίες η *B.melitensis* ενδημεί.

Τα ζωντανά, ελαττωμένης λοιμογόνου δύναμης (Ε.Λ.Δ) εμβόλια, που χρησιμοποιήθηκαν μέχρι σήμερα για την πρόληψη της νόσου αποδείχτηκε ότι έχουν περισσότερα πλεονεκτήματα από τα νεκρά διότι είναι αποτελεσματικά και δίνουν μεγαλύτερης διάρκειας ανοσία. Το ιδανικό ζωντανό Ε.Λ.Δ εμβόλιο θα πρέπει:

- Να δίνει μακροχρόνια προστασία στα εμβολιασμένα κάθε ηλικίας και φύλου ζώα με μόνο μία εμβολιακή δόση
  - Να μην προκαλεί μετεμβολιακή αποβολή ή στειρότητα
  - Τα παραγόμενα εμβολιακά αντισώματα να μην ανιχνεύονται με τις επίσημες κλασικές ορολογικές μεθόδους για μεγάλο χρονικό διάστημα, για να μην παρεμποδίζεται ο διαχωρισμός των φυσικώς μολυσμένων από τα εμβολιασμένα ζώα
  - Να μην μεταδίδεται σε ευπαθή ζώα
  - Να μην είναι παθογόνο για τον άνθρωπο
  - Να μην μεταδίδεται σε άγρια ζώα
  - Να μην υπάρχει κίνδυνος να επανακτήσει την λοιμογόνο του δύναμη τόσο in vivo όσο και in vitro
  - Να μπορεί εύκολα να καλλιεργηθεί σε εξειδικευμένα εργαστήρια, διότι είναι απαραίτητος ο συχνός έλεγχος της ποιότητας των εμβολίων που κυκλοφορούν
- Το ιδανικό ζωντανό εμβόλιο θα πρέπει επίσης να περιέχει ειδικούς γενοτυπικούς ή φαινοτυπικούς σημαντές ( markers) οι οποίοι να το διαφοροποιούν εύκολα από τα φυσικά στελέχη.

## **ΕΜΒΟΛΙΑ**

### **Εμβόλιο *Brucella melitensis* Rev 1**

Το ζωντανό Ε.Λ.Δ. εμβόλιο Rev 1, που χρησιμοποιείται σήμερα για τον εμβολιασμό των μικρών μηρυκαστικών είναι ένας μεταλλάκτης του αρχικού στελέχους, που απομονώθηκε από τον άνθρωπο το 1953 από τους Elberg και Herzberg. Το στέλεχος αυτό είχε μειωμένη λοιμογόνο δύναμη και αναπτυσσόταν μόνο παρουσία στρεπτομυκίνης, δεν παρουσίαζε όμως αξιόλογη ανοσοποιητική ικανότητα. Οι Elberg και Herzberg ξεκινώντας από το αρχικό αυτό στέλεχος απομόνωσαν έναν μεταλλάκτη

στρεπτομυκίνο – ανεξάρτητο, μειωμένης λοιμογόνου δύναμης, με πολύ καλύτερη όμως ανοσοποιητική ικανότητα από αυτή του αρχικού στελέχους. Το μεταλλαγμένο σταθερό στέλεχος *B. melitensis* (Rev 1) χρησιμοποιήθηκε ως εμβόλιο από τους Elberg και Faune, το 1957.

Το Rev 1 θεωρείται σήμερα το καλύτερο από τα διαθέσιμα εμβόλια για την πρόληψη της βρουκέλλωσης στα αιγοπρόβατα. Η ικανότητα του να προκαλεί ισχυρή και μακράς διάρκειας ανοσία, τόσο κατά της φυσικής όσο και κατά της πειραματικής μόλυνσης, έχει αποδειχθεί αποτελεσματικά τόσο στα πρόβατα όσο και στις αίγες. Η επαρκής προστασία όμως είναι δυνατή μόνο όταν η ποιότητα του εμβολίου είναι καλή και χορηγείται τουλάχιστον στο 80% των ζώων που κινδυνεύουν να μολυνθούν.

Η διάρκεια της ανοσίας που προκαλεί το Rev 1 ερευνήθηκε σε αίγες, οι οποίες εμβολιάστηκαν σε ηλικία 4 έως 12 μηνών και μολύνθηκαν με φυσικό στέλεχος 2 και 4,5 χρόνια αργότερα. Οι αίγες που μολύνθηκαν 4,5 χρόνια μετά τον εμβολιασμό ήταν το ίδιο ανθεκτικές, με αυτές που μολύνθηκαν μετά από 2 χρόνια, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι το Rev 1 προστατεύει τα ζώα σχεδόν για όλη τους την ζωή.

Παρόμοια αποτελέσματα έδωσαν πειράματα που έγιναν σε πρόβατα, τα οποία μολύνθηκαν 2,5 χρόνια μετά τον εμβολιασμό.

Νεότερες έρευνες απέδειξαν την αποτελεσματικότητα του Rev 1 σε αμνούς, που εμβολιάστηκαν σε ηλικία 3 μηνών τόσο με υποδόρια, όσο και με οφθαλμική χορήγηση και μολύνθηκαν μετά από 15 και 10 μήνες αντίστοιχα ή εμβολιάστηκαν με οφθαλμική χορήγηση και μολύνθηκαν, με φυσικό στέλεχος 2,5 χρόνια αργότερα.

Το Rev 1 δεν πρέπει να χρησιμοποιείται χωρίς κανένα περιορισμό. Η υπολειμματική λοιμογόνος του ικανότητα μπορεί να προκαλέσει αποβολές και επιπλέον οδηγεί σε μακροχρόνια ανοσολογική ανταπόκριση (παρουσία αντισωμάτων στον ορό των

εμβολιασμένων), τα οποία ανιχνεύονται με τις κλασικές εργαστηριακές ορολογικές δοκιμές, Rose Bengal (RB) και Σύνδεση του Συμπληρώματος (ΣΣ).

Στην προσπάθεια να ελαχιστοποιηθούν αυτά τα φαινόμενα έχουν δοκιμαστεί και μελετηθεί διάφορες εναλλακτικές λύσεις, όπως μείωση της δόσης όταν το εμβόλιο χορηγείται υποδορίως ή χορήγηση κανονικής δόσης δια της οφθαλμικής οδού.

## **ΆΛΛΑ ΔΙΑΘΕΣΙΜΑ ΕΜΒΟΛΙΑ**

### **Εμβόλιο *B. melitensis*, στέλεχος M111**

Το Ε.Λ.Δ στέλεχος M111 παρασκευάστηκε στην Κίνα, έχει τις ιδιότητες της *B. melitensis* βιότυπος 1 αλλά βρίσκεται στην φάση R. Η λοιμογόνος του δύναμη είναι μικρότερη από αυτή της *B. suis* S2. Δεν αποβάλλεται από τις εκκρίσεις των προβάτων και των αιγών, ούτε προκαλεί αποβολές στα εγκυα ζώα. Το εμβόλιο χορηγείται παρεντερικά ή με το πόσιμο νερό και δίνει ικανοποιητική ανοσία, στο 80% των ζώων. Προστατεύει τα εμβολιασμένα ζώα από το λοιμογόνο στέλεχος *B. melitensis* M28. Τα αντισώματα που παράγονται δεν ανιχνεύονται με τις κλασικές ορολογικές δοκιμές επομένως το εμβόλιο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ένα πρόγραμμα με τελικό σκοπό τον έλεγχο και την σφαγή των θετικών ζώων.

### **Εμβόλιο *B. melitensis* στέλεχος VTRM1**

Το VTRM1 είναι Ε.Λ.Δ. R στέλεχος *B. melitensis*, προήλθε από μετάλλαξη του στελέχους αναφοράς *B. melitensis* 16M. Τα αντισώματα που παράγονται δεν αντιδρούν με τα SLPS αντιγόνα και δεν ανιχνεύονται με τις κλασικές ορολογικές μεθόδους. Όμως το εμβόλιο αυτό δεν δίνει επαρκή προστασία στις αίγες κατά της *B. melitensis*.

Η πειραματική σύγκριση του Rev 1 με τα άλλα διαθέσιμα εμβόλια, M111 ΚΑΙ VTRM1 επιβεβαίωσαν την υπεροχή του.

Επομένως, μέχρι ένα ασφαλέστερο και αποτελεσματικότερο εναλλακτικό εμβόλιο να είναι διαθέσιμο, το Rev θα συνεχίσει να είναι το εμβόλιο αναφοράς για την πρόληψη της βρουκέλλωσης στα μικρά μηρυκαστικά. Ο οφθαλμικός εμβολιασμός είναι το ιδανικό εργαλείο για την προφύλαξη των νεαρών αλλά και των ενήλικων ζώων που προορίζονται για αναπαραγωγή. Η πιθανότητα αποβολής ελαχιστοποιείται ή και μηδενίζεται όταν τα έγκυα ζώα εμβολιάζονται τον τελευταίο μήνα της κυοφορίας.

## ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΣ

### Υποδόριος εμβολιασμός με Rev 1

#### 1. Σε νεαρά ζώα

Κλασικά και σε χώρες όπου η *B. melitensis* δεν ενδημεί, γίνεται υποδόριος εμβολιασμός σε νεαρά θηλυκά ζώα (3-6 μηνών) που προορίζονται για αναπαραγωγή, με την κανονική δόση ( $1-2 \times 10^9$  cfu/ml).

Ο τρόπος αυτός εμβολιασμού δίνει σταθερή και μεγάλης διάρκειας ανοσία.

Τα εμβολιακά αντισώματα ανιχνεύονται για μεγάλο χρονικό διάστημα, για 2 περίπου χρόνια μετά τον εμβολιασμό, με την μέθοδο της RB και ΣΣ, γεγονός που κάνει την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των ορολογικών εξετάσεων δύσκολη.

Υποτίθεται ότι μετά την εφαρμογή ενός ειδικού εμβολιακού προγράμματος (μόνο στα νεαρά ζώα) για χρονικό διάστημα 5 έως 6 ετών, όλο το ζωικό κεφάλαιο θα έχει προστασία για όλη του την ζωή.

Όμως αυτή η ειδική πρακτική εμβολιασμών δεν είναι εφαρμόσιμη σε αναπτυσσόμενες χώρες και απέτυχε να ελεγξει την βρουκέλλωση ακόμη και στις

ανεπτυγμένες χώρες. Οι κυριότεροι εμπλεκόμενοι παράγοντες, που μπορούν να οδηγήσουν στην αποτυχία περιλαμβάνουν :

- Χαμηλή εμβολιακή κάλυψη, η οποία οφείλεται στην εποχικότητα των τοκετών και στο σύστημα των εκτροφών ( ημιεκτατικο με μετακινούμενα ποιμνία)
- Χρήση εμβολίων τα οποία δεν έχουν επαρκή ποιοτικό έλεγχο
- Πιθανή μείωση του επιπέδου της ανοσίας με την πάροδο του χρόνου, διότι σε μερικές Ευρωπαϊκές χώρες η αναπαραγωγική ζωή των μικρών μηρυκαστικών αυξήθηκε σημαντικά από 5-6 σε 9-10 χρόνια.

## 2. Σε ενήλικα ζώα

Ο κλασικός εμβολιασμός των νεαρών ζώων (3-6μηνών) αναπαραγωγής απέτυχε στον έλεγχο της βρουκέλλωσης σε μερικές Μεσογειακές χώρες και συχνά είναι ανεφάρμοστος σε πολλές περιοχές του κόσμου.

Επομένως, ο εμβολιασμός όλου του ποιμνίου είναι ο μόνος εναλλακτικός τρόπος ελέγχου της βρουκέλλωσης των μικρών μηρυκαστικών σε περιοχές που η νόσος ενδημεί, καθώς και σε περιοχές με συνθήκες ημιεκτατικής ή και εκτατικής εκτροφής, οι οποίες είναι χαρακτηριστικές για πολλές αναπτυσσόμενες χώρες.

Όταν ο εμβολιασμός με Rev 1 γίνεται σε όλα τα μικρά μηρυκαστικά, κάθε ηλικίας, σε περιοχές με υψηλό επιπολασμό της νόσου, το Rev 1 μειώνει την δυνατότητα απέκκρισης του μικροοργανισμού, οδηγεί σε ουσιαστική μείωση του ποσοστού μόλυνσης, τόσο σε επίπεδο ποιμνίων, όσο και σε επίπεδο ζώων και επιτρέπει στην συνέχεια την εφαρμογή του προγράμματος “έλεγχος και σφαγή” για την εκρίζωση της νόσου.

Ο μαζικός εμβολιασμός με Rev 1 έχει δύο κύρια μειονεκτήματα:



- Ο υποδόριος εμβολιασμός των ενηλίκων ζώων με την κανονική δόση του Rev 1 παρέχει μεγάλης διάρκειας ορολογική ανταπόκριση και δυσκολεύει την διάκριση των εμβολιασμένων ζώων από τα φυσικά μολυσμένα, όταν συγχρόνως ή λίγο αργότερα εφαρμόζεται πρόγραμμα εκρίζωσης της νόσου βασισμένο στον έλεγχο και την σφαγή.
- Ο υποδόριος εμβολιασμός έγκυων ζώων με την κανονική δόση ακολουθείται συνήθως από μετεμβολιακή αποβολή στο σύνολο σχεδόν των ζώων. Στις περιπτώσεις αυτές το εμβολιακό στέλεχος απεκκρίνεται με το γάλα και τα εκκρίματα του γεννητικού συστήματος στο περιβάλλον και μπορεί να μεταδοθεί σε υγιή ζώα. Είναι βέβαιο ότι η ικανότητα του Rev 1 να προκαλεί αποβολή εξαρτάται από την δόση και από το στάδιο της εγκυμοσύνης του εμβολιασμένου ζώου.
- Μείωση της δόσης συντελεί στην αύξηση του βαθμού ασφάλειας, όχι όμως και της ανοσίας του ζώου. Ο κίνδυνος αποβολής μειώνεται όταν τα ζώα εμβολιάζονται στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας. Υποδόριος εμβολιασμός με μειωμένη δόση χρησιμοποιήθηκε πειραματικά για εμβολιασμό σε συνθήκες εκτροφής και θεωρήθηκε αποτελεσματική μέθοδος ελέγχου της βρουκέλλωσης στις αίγες και στα πρόβατα και ασφαλής για τα έγκυα ζώα. Όμως αυτός ο τρόπος προστασίας είναι αποτελεσματικός μόνο κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες πειραματικά συνθήκες. Δοκιμές σε συνθήκες εκτροφής απέδειξαν ότι η μειωμένη δόση προκαλεί αποβολές και απέκκριση του μικροοργανισμού με τα κολπικά εκκρίματα από προβατίνες και αίγες μετά από φυσική μόλυνση.

### **Οφθαλμικός εμβολιασμός με Rev 1**

#### **1. Σε νεαρά ζώα**

Όταν το Rev 1 χορηγείται σε νεαρά ζώα 3-6 μηνών δια της οφθαλμικής οδού, η προστασία που παρέχει είναι η ίδια με αυτή που προκαλεί η χορήγηση του εμβολίου

από την κλασική υποδόρια οδό, ο χρόνος όμως ανίχνευσης των εμβολιακών αντισωμάτων είναι σημαντικά μειωμένος. Με τις κλασικές ορολογικές μεθόδους τα εμβολιακά αντισώματα ανιχνεύονται για περίπου 4 μήνες, ενώ με την μέθοδο Fluorescence Polarization Assay (FPA) για 3 περίπου μήνες. Επομένως, αυτός ο τρόπος εμβολιασμού είναι απολύτως συμβατός με την σύγχρονη εφαρμογή προγράμματος εκρίζωσης της νόσου που βασίζεται στον έλεγχο και την σφαγή των φυσικώς μολυσμένων ζώων. Επιπλέον δεν έχουν αναφερθεί παρενέργειες, απέκκριση από το γάλα και η μόλυνση του περιβάλλοντος από τα οφθαλμικά εκκρίματα είναι ελάχιστη και χρονικά πολύ περιορισμένη.

## 2. Σε ενήλικα ζώα

Το Rev 1 χορηγείται σε ενήλικα θηλυκά ζώα δια της οφθαλμικής οδού. Στην κανονική δόση μία σταγόνα διαλύματος εμβολίου περιέχει  $1 \times 10^8$  έως  $1 \times 10^9$  cfu ζωντανά βκτήρια *Brucella melitensis*. Δεν εμβολιάζονται τα αρσενικά και τα έγκυα ζώα. Ο μη εμβολιασμός των εγκύων ζώων αποτελεί οποσδήποτε ένα περιοριστικό παράγοντα του εμβολιακού αυτού προγράμματος, διότι με τον τρόπο αυτό παραμένουν, για ένα χρονικό διάστημα, ανεμβολίαστα ζώα, αν ήδη είναι μολυσμένα ή είναι ένας ευαίσθητος πληθυσμός για πιθανή μόλυνση από φυσικό στέλεχος.

Η πρόκληση αποβολής όταν εμβολιάζονται έγκυα ζώα, σημαίνει ότι δεν υπάρχει απολύτως ασφαλής στρατηγική σε περιπτώσεις μαζικών εμβολιασμών με Rev 1. Όταν όμως τα έγκυα ζώα εμβολιάζονται δια της οφθαλμικής οδού, το αποτέλεσμα είναι λιγότερες αποβολές, σε σύγκριση με αυτές που προκαλούνται με τον υποδόριο εμβολιασμό. Πολλές από αυτές τις μετεμβολιακές αποβολές συμβαίνουν 40 με 60 ημέρες μετά τον εμβολιασμό και εξαρτώνται κυρίως από το στάδιο της εγκυμοσύνης κατά την στιγμή του εμβολιασμού του ζώου. Το ποσοστό των αποβολών είναι

σημαντικά υψηλότερο όταν ο εμβολιασμός γίνεται τους δύο πρώτους μήνες της κυοφορίας, ενώ είναι σχεδόν μηδενικό όταν γίνεται στον τελευταίο μήνα.

Προκειμένου να είναι ασφαλής ο εμβολιασμός των ενήλικων ζώων προτείνεται να εμβολιάζονται τα ζώα που βρίσκονται στο στάδιο της γαλακτοπαραγωγής ή στον τελευταίο μήνα της κήσης.

Ο εμβολιασμός των ζώων κατά την διάρκεια της γαλακτοπαραγωγής θεωρείται απόλυτα ασφαλής και δεν εγκυμονεί κανέναν κίνδυνο για την δημόσια υγεία, ακόμα και στις μεμονωμένες περιπτώσεις που παρατηρήθηκε απέκκριση του εμβολιακού στελέχους από το γάλα, μετά από υποδόριο εμβολιασμό αιγών.

Αναφέρεται επίσης ότι ο εμβολιασμός μολυσμένων ενήλικων ζώων δεν προκαλεί παρενέργειες αλλά προστατεύει τα ζώα από την αποβολή που πιθανόν να προκληθεί από φυσικό στέλεχος. Αποτέλεσμα της παραπάνω δράσης του εμβολίου είναι η μείωση της απέκκρισης του φυσικού στελέχους και κατά συνέπεια η μείωση της μόλυνσης του περιβάλλοντος.

Όταν χορηγείται μειωμένη δόση Rev 1 από τον οφθαλμό οι αποβολές είναι λιγότερες σε σύγκριση με αυτές που προκαλούνται από την κανονική δόση. Οι διαθέσιμες πειραματικές μελέτες δεν έχουν καταλήξει σε συμπέρασμα σε ότι αφορά το ερώτημα : ποια είναι η μεγαλύτερη δόση, η οποία όμως να είναι συμβατή με ένα αποδεκτό βαθμό ασφάλειας και μια ισχυρή και μακράς διάρκειας ανοσία; Η μικρότερη δόση που χορηγήθηκε από τον οφθαλμό, κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες είναι  $10^8$  cfu, αλλά οι ερευνητές συμπεραίνουν ότι δεν είναι επαρκώς ασφαλής για να προτείνεται αδιάκριτα ο εμβολιασμός των προβάτων και των αιγών με την δόση αυτή από την οφθαλμική οδό, σε οποιαδήποτε ηλικία και ανεξάρτητα από την φυσική κατάσταση του ζώου.

Είναι σίγουρο ότι ο οφθαλμικός εμβολιασμός με μια μικρότερη δόση  $1 \times 10^{6-7}$  cfu Rev 1 δεν προσδίδει επαρκή ανοσία στα πρόβατα και τις αίγες ακόμη και μετά από επανεμβολιασμό, μπορεί όμως να προκαλέσει μετεμβολιακές αποβολές.

Κάτω από πειραματικές συνθήκες η ελάχιστη αποτελεσματική δόση χορηγούμενη από τον οφθαλμό είναι  $4 \times 10^8$  cfu στους αμνούς,  $1,1 \times 10^7$  cfu στα ερίφια και  $4,5 \times 10^8$  cfu στις προβατίνες. Οι δόσεις όμως αυτές δεν δίνουν επαρκή προστασία σε συνθήκες εκτροφής.

### **ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ ΥΓΕΙΑ**

Η βρουκέλλωση αποτελεί ένα από τα σπάνια νοσήματα που ενέχει σημαντικό κίνδυνο μετάδοσης στο ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό των μικροβιολογικών εργαστηρίων. Γεγονός όμως είναι, ότι η μετάδοση της νόσου δεν μπορεί να γίνει από άνθρωπο σε άνθρωπο. Η μετάδοση στον άνθρωπο γίνεται, α) με κατανάλωση μη παστεριωμένων γαλακτοκομικών προϊόντων από μολυσμένα ζώα, β) από άμεση επαφή με αυτά. Οι μικροοργανισμοί μολύνουν τους ανθρώπους μέσω εκδορών του δέρματος ή των βλεννογόνων ή μέσω της αναπνευστικής οδού. Η περίοδος επώασης της νόσου κυμαίνεται από πέντε ημέρες έως αρκετούς μήνες. Ο μέσος όρος όμως του χρόνου επώασης είναι δύο εβδομάδες. Η βρουκέλλωση μεταδίδεται συνήθως κατά την αποβολή του κύματος ή τον τοκετό των ζώων. Υψηλές συγκεντρώσεις βακτηριδίων εντοπίζονται στα υγρά του τοκετού ενός μολυσμένου ζώου. Τα βακτηρίδια δημιουργούν επίσης αποικίες στους μαστούς και μολύνουν το γάλα. Η ασθένεια μπορεί ακόμη να μολύνει τον άνθρωπο και τα ζώα μέσω της λύσης συνεχείας του δέρματος ή μέσω των βλεννογόνων.

Τα συμπτώματα στον άνθρωπο είναι: διαλείπων ή ακανόνιστος πυρετός, κεφαλαλγία, αδυναμία, έντονη εφίδρωση, ρίγη, απώλεια βάρους και διάχυτα άλγη. Παρατηρούνται

επίσης λοιμώξεις οργάνων όπως το ήπαρ και ο σπλήνας. Οι κτηνίατροι, οι κτηνοτρόφοι και οι εργαζόμενοι σε σφαγεία είναι επίσης ευάλωτοι να μολυνθούν κατά την επαφή με μολυσμένα ζώα και αποβληθέντα κύματα ή πλακούντες. Η νόσος μπορεί επίσης να μεταδοθεί στον άνθρωπο με την κατανάλωση μη παστεριωμένου γάλακτος από μολυσμένα ζώα. Γενικά τα συμπτώματα της βρουκέλλωσης μοιάζουν με αυτά της γρίπης και για τον λόγο αυτό η νόσος είναι δύσκολο να εντοπισθεί στο αρχικό της στάδιο. Η διάγνωση τίθεται με την απομόνωση του μικροοργανισμού από το περιφερικό αίμα ή το μυελό των οστών και την ανίχνευση ειδικών αντισωμάτων στον ορό του αίματος.

## **ΠΡΟΛΗΨΗ**

Η πρόληψη της βρουκέλλωσης στηρίζεται σε τρεις παράγοντες: 1)Τον υποχρεωτικό εμβολιασμό όλων των υγιών ζώων, 2)Τη σφαγή όλων των προσβεβλημένων από τη βρουκέλλωση ζώων και 3)Τη παστερίωση των γαλακτοκομικών προϊόντων. Η επιβολή αυστηρών κτηνοτροφικών οδηγιών και η εντατική ενημέρωση αλλά και η εκπαίδευση των κτηνοτρόφων, είναι απαραίτητα μέτρα για την εκρίζωση της βρουκέλλωσης. Η νόσος αντιμετωπίζεται με αντιβιοτική αγωγή. Η οξεία ή η χρόνια μορφή της βρουκέλλωσης σπάνια είναι θανατηφόρα. Η επιτήρηση με τη χρησιμοποίηση ορολογικών δοκιμών καθώς και η εφαρμογή δοκιμών στο γάλα, όπως η δοκιμή του δακτυλίου (rink-test), μπορεί να χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο και αποτελούν σημαντική συνιστώσα των εκστρατειών για την εξάλειψη της ασθένειας. Σε περιοχές όπου ενδημεί η νόσος, ένα μέσο για να περιοριστεί ο επιπολασμός της είναι ο εμβολιασμός.

Πώς μπορεί να προληφθεί η μόλυνση

- δηλώνοντας υποχρεωτικά τα κρούσματα σε ζώα προκειμένου να παρέμβουν οι κτηνιατρικές υπηρεσίες
- αποφεύγοντας την άμεση επαφή με μολυσμένα ζώα και τα προϊόντα τους
- αποφεύγοντας την κατανάλωση μολυσμένων γαλακτοκομικών προϊόντων (γάλα, τυρί)
- τηρώντας τα μέτρα προσωπικής υγιεινής και υγιεινής του χώρου στον οποίο γίνεται επεξεργασία προϊόντων ζωικής προέλευσης (Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας).

Οι επιπλοκές, οι οποίες εξαρτώνται από την ανοσολογική αντίδραση του ατόμου, είναι:

- αρθρίτιδα, οστεοαρθρίτιδα, οστεομυελίτιδα, δισκοσπονδυλίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα, πνευμονία
- κερατίτιδα ή χρόνια ιριδοκυκλίτιδα
- ορχίτιδα.

Η βρουκέλλωση θεραπεύεται με αντιβιοτική αγωγή. Το ποσοστό θνησιμότητας στον άνθρωπο είναι >2% και συνήθως σχετίζεται με την εμφάνιση ενδοκαρδίτιδας

## ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

### Πραγματοποιηθέντες εμβολιασμοί στην Λέσβο από το 2003 έως το 2009

#### ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΝΤΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΙ

Ημερομηνία Εκτύπωσης : 8/1/2010

Νομός : Ν.ΛΕΣΒΟΥ

Από Ημερομηνία : 1/1/2003

Εως Ημερομηνία : 31/12/2003

| Είδος Εκτροφής | ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΕΣ |                              |                              | ΑΝΕΜΒΟΛΙΑΣΤΕΣ |                              |                              |
|----------------|---------------|------------------------------|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
|                | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα |
| Πρόβατα        | 0             | 0                            | 0                            | 49            | 4.465                        | 667                          |
| Αίγες          | 0             | 0                            | 0                            | 8             | 635                          | 89                           |
| Μικτές         | 0             | 0                            | 0                            | 50            | 8.611                        | 1.761                        |
| ΣΥΝΟΛΟ         | 0             | 0                            | 0                            | 107           | 13.711                       | 2.517                        |

#### ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΝΤΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΙ

Ημερομηνία Εκτύπωσης : 8/1/2010

Νομός : Ν.ΛΕΣΒΟΥ

Από Ημερομηνία : 1/1/2004

Εως Ημερομηνία : 31/12/2004

| Είδος Εκτροφής | ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΕΣ |                              |                              | ΑΝΕΜΒΟΛΙΑΣΤΕΣ |                              |                              |
|----------------|---------------|------------------------------|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
|                | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα |
| Πρόβατα        | 1             | 60                           | 54                           | 24            | 2.106                        | 415                          |
| Αίγες          | 0             | 0                            | 0                            | 5             | 227                          | 58                           |
| Μικτές         | 3             | 287                          | 120                          | 38            | 6.420                        | 656                          |
| ΣΥΝΟΛΟ         | 4             | 347                          | 174                          | 67            | 8.753                        | 1.129                        |

**ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΝΤΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΙ**

Ημερομηνία Εκτύπωσης : 8/1/2010

Νομός : Ν.ΛΕΣΒΟΥ

Από Ημερομηνία : 1/1/2005

Εως Ημερομηνία : 31/12/2005

| Είδος Εκτροφής | ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΕΣ |                              |                              | ΑΝΕΜΒΟΛΙΑΣΤΕΣ |                              |                              |
|----------------|---------------|------------------------------|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
|                | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα |
| Πρόβατα        | 28            | 95                           | 1.055                        | 85            | 10.356                       | 1.461                        |
| Αίγες          | 2             | 27                           | 90                           | 12            | 1.545                        | 137                          |
| Μικτές         | 50            | 1.426                        | 2.988                        | 74            | 10.550                       | 696                          |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>  | <b>80</b>     | <b>1.548</b>                 | <b>4.133</b>                 | <b>171</b>    | <b>22.451</b>                | <b>2.294</b>                 |

**ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΝΤΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΙ**

Ημερομηνία Εκτύπωσης : 8/1/2010

Νομός : Ν.ΛΕΣΒΟΥ

Από Ημερομηνία : 1/1/2006

Εως Ημερομηνία : 31/12/2006

| Είδος Εκτροφής | ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΕΣ |                              |                              | ΑΝΕΜΒΟΛΙΑΣΤΕΣ |                              |                              |
|----------------|---------------|------------------------------|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
|                | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα |
| Πρόβατα        | 18            | 1.350                        | 474                          | 69            | 7.367                        | 998                          |
| Αίγες          | 2             | 0                            | 100                          | 7             | 622                          | 173                          |
| Μικτές         | 7             | 540                          | 400                          | 28            | 3.360                        | 500                          |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>  | <b>27</b>     | <b>1.890</b>                 | <b>974</b>                   | <b>104</b>    | <b>11.349</b>                | <b>1.671</b>                 |



**ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΝΤΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΙ**

Ημερομηνία Εκτύπωσης : 8/1/2010

Νομός : Ν.ΛΕΣΒΟΥ

Από Ημερομηνία : 1/1/2007

Εως Ημερομηνία : 31/12/2007

| Είδος Εκτροφής | ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΕΣ |                              |                              | ΑΝΕΜΒΟΛΙΑΣΤΕΣ |                              |                              |
|----------------|---------------|------------------------------|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
|                | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα |
| Πρόβατα        | 75            | 1.930                        | 2.212                        | 123           | 15.973                       | 1.039                        |
| Αίγες          | 7             | 130                          | 168                          | 19            | 1.704                        | 43                           |
| Μικτές         | 24            | 328                          | 1.478                        | 67            | 6.532                        | 853                          |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>  | <b>106</b>    | <b>2.388</b>                 | <b>3.858</b>                 | <b>209</b>    | <b>24.209</b>                | <b>1.935</b>                 |

**ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΝΤΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΙ**

Ημερομηνία Εκτύπωσης : 8/1/2010

Νομός : Ν.ΛΕΣΒΟΥ

Από Ημερομηνία : 1/1/2008

Εως Ημερομηνία : 31/12/2008

| Είδος Εκτροφής | ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΕΣ |                              |                              | ΑΝΕΜΒΟΛΙΑΣΤΕΣ |                              |                              |
|----------------|---------------|------------------------------|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
|                | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα |
| Πρόβατα        | 70            | 227                          | 2.935                        | 189           | 17.449                       | 1.906                        |
| Αίγες          | 5             | 0                            | 120                          | 14            | 1.497                        | 178                          |
| Μικτές         | 9             | 875                          | 426                          | 20            | 2.515                        | 144                          |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>  | <b>84</b>     | <b>1.102</b>                 | <b>3.481</b>                 | <b>223</b>    | <b>21.461</b>                | <b>2.228</b>                 |

## ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΘΕΝΤΕΣ ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΟΙ

Ημερομηνία Εκτύπωσης : 8/1/2010

Νομός : Ν.ΛΕΣΒΟΥ

Από Ημερομηνία : 1/1/2009

Εως Ημερομηνία : 31/12/2009

| Είδος Εκτροφής | ΕΜΒΟΛΙΑΣΜΕΝΕΣ |                              |                              | ΑΝΕΜΒΟΛΙΑΣΤΕΣ |                              |                              |
|----------------|---------------|------------------------------|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
|                | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα | Εκτροφές      | Εμβολιασθέντα<br>Ενήλικα Ζώα | Εμβολιασθέντα<br>Ανήλικα Ζώα |
| Πρόβατα        | 51            | 789                          | 1.307                        | 108           | 6.843                        | 1.867                        |
| Αίγες          | 4             | 0                            | 96                           | 8             | 592                          | 79                           |
| Μικτές         | 3             | 0                            | 155                          | 15            | 2.091                        | 241                          |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>  | <b>58</b>     | <b>789</b>                   | <b>1.558</b>                 | <b>131</b>    | <b>9.526</b>                 | <b>2.187</b>                 |

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### ΚΑΤΑΡΡΟΙΚΟΣ ΠΥΡΕΤΟΣ

Το πρόγραμμα ως φαίνεται από την παραπάνω έρευνα, είχε επιτυχή εφαρμογή με αποτέλεσμα την εκρίζωση της νόσου από τη νήσο της Λέσβου. Τα μέτρα συνεχίζονται έως σήμερα με σκοπό την πρόληψη και αποφυγή της ασθένειας. Αυτό επιπροσθέτως εφαρμόζεται με την ορολογική επιτήρηση της νόσου και των εισαγόμενων ζωντανών μηρυκαστικών.

### ΜΕΛΙΤΑΙΟΣ ΠΥΡΕΤΟΣ

Ο εμβολιασμός των αιγοπροβάτων είναι το μόνο αποτελεσματικό μέτρο καταπολέμησης των μολυσμένων από την Βρουκελλα ζώων. Εφαρμόστηκε και στην πορεία διακόπηκε με σκοπό την χρήση μέτρων για την εκρίζωση της νόσου, κάτι που όμως αποδείχτηκε εσφαλμένο αφού αυξήθηκαν τα μολυσμένα ζώα και θεωρήθηκε αναγκαίο το 1997 να γίνει αναθεώρηση του προγράμματος. Το 1998 αποδείχθη ότι η μόνη ενδεδειγμένη ενέργεια καταπολέμησης είναι αυτή του εμβολιασμού με οφθαλμική χορήγηση του εμβολίου. Η διαδικασία αυτή συνεχίζεται έως σήμερα.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Bowman D.D. (1995) Georzi's Parasitology For Veterinarian's. WB Saunders Company, Philadelphia

Castro A.E and Heuschele W.P (1992) Veterinary Diagnostic Virology. Veterinary Diagnostic Laboratory System, University, Davis, California

Carter G.R. and Chengappa M.M (1993) Microbial Diseases, A Veterinarian's Guide To Laboratory Diagnosis. Iowa State University Press

Jones T.C. and Hunt R.D. (1983) Veterinary Pathology. Lea&Febiger, Philadelphia

Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J. and Leonard F.C (2001).  
Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Blackwell Science

Νομικού Κυριακή (2007). Καταρροϊκός πυρετός προβάτου: Μοριακή μελέτη του ιού και βελτίωση των μεθόδων τυποποίησης του. Διδακτορική Διατριβή. Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ

Ρογδάκης Εμμανουήλ. Γενική Ζωοτεχνία. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης

Η Βρουκέλλωση των μικρών μηρυκαστικών σύγχρονες απόψεις και τάσεις. Επιστημονική Ημερίδα. Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία, 2002

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

Bowman D.D. (1995) Georzi's Parasitology For Veterinarian's. WB Saunders Company, Philadelphia

Castro A.E and Heuschele W.P (1992) Veterinary Diagnostic Virology. Veterinary Diagnostic Laboratory System, University, Davis, California

Carter G.R. and Chengappa M.M (1993) Microbial Diseases, A Veterinarian's Guide To Laboratory Diagnosis. Iowa State University Press

Jones T.C. and Hunt R.D. (1983) Veterinary Pathology. Lea&Febiger, Philadelphia

Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J. and Leonard F.C (2001).  
Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Blackwell Science

Νομικού Κυριακή (2007). Καταρροϊκός πυρετός προβάτου: Μοριακή μελέτη του ιού και βελτίωση των μεθόδων τυποποίησης του. Διδακτορική Διατριβή. Κτηνιατρική Σχολή Α.Π.Θ

Ρογδάκης Εμμανουήλ. Γενική Ζωοτεχνία. Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης

Η Βρουκέλλωση των μικρών μηρυκαστικών σύγχρονες απόψεις και τάσεις. Επιστημονική Ημερίδα. Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία, 2002