

wirusa białaczki, d) uaktywnienia się schorzenia latentnego.

Znany jest np. przypadek wybuchu biegunki wirusowej u bydła po szczepieniach szczepionką biwalentną przeciwko wirusowej biegunce i zakaźnemu zapaleniu krtani i tchawicy u bydła (43), a Korn i Schulte (37) wykazali możliwość wzrostu zjadliwości szczepu pomoru świń i wywołania nietypowego przebiegu pomoru.

Szczepionki inaktywowane mogą spowodować na ogół jedynie reakcje poszczepienne przeważnie miejscowe. Jednak ze względu na większy koszt ich stosowania i mniejszą efektywność są coraz częściej zastępowane przez szczepionki żywe.

Piśmiennictwo, w liczbie 79 pozycji, u Autora.

Adres autora: doc. dr Janusz Wawrzekiewicz, Lublin, ul. B. Chrobrego 1 m. 19.

TADEUSZ JASTRZĘBSKI

Lublin

Pomór afrykański koni

Po afrykańskim pomorze świń druga już egzotyczna afrykańska zaraźliwa choroba zwierząt gospodarskich zagraża Europie. Jest to pomór koni (*pestis equorum*, *african hoovesickness*, *afrikanische Pferdesterbe*, *peste africaine du cheval*, *paardenziekte*, *peste equine*, czuma łoszadiej) — ostra choroba wirusowa nieparzystokopytnych. Ogniska pomoru koni (p.k.) zbliżyły się w latach 1960—1969 niebezpiecznie do naszego kontynentu a nawet pojawiły się na lądzie Europy, na razie w Hiszpanii (7). Pomór koni powoduje duże straty ekonomiczne zwłaszcza na terenach świeżo zapowietrzonych. W Afganistanie w 1960 r. padło na p.k. ok. 300 tys. sztuk (4). W Turcji straty w ciągu 7 miesięcy 1960 r. wyniosły ok. 6% ogólnego погоłowia koni i mułów (4).

Rys historyczny.

Pomór koni wszedł do piśmiennictwa przed kilkuset laty. Według historyka weterynarii N. Moule'a (18) pewne dokumenty arabskie z XVI stulecia pozwalają przypuszczać zawleczenie p.k. do Jemenu już w 1327 r. Pierwszego opisu w Afryce w okolicach Zambazi dokonał zakonnik Monclaro w 1569 r. (18). Zupełnie pewne opisy choroby pochodzą z XVII w. gdy p.k. na Przylądku Dobrej Nadziei w 1719 r. spowodował śmierć 1700 koni wśród zwierząt Holenderskiej Kompanii Indii Wschodnich. W latach 1854—1855 opisano padnięcia na p.k. w Afryce Południowej ok. 70 tysięcy koni tj. 40% погоłowia (18). Przesączalność zarazka wykazali Mc Fadyean 1900, Theiler 1901 i No-card 1901 (cyt. wg Couturier 1966 (8) i Hovell 1969 (13). Na znaczenie owadów krwiopijnych jako przenosicieli wskazał w 1944 r. Du Toit (9), a pierwsze skuteczne szczepionki opracowali w 1936 r. Alexander Neitz i Du Toit (3).

Występowanie.

Choroba występuje endemicznie w krajach centralnej i południowej Afryki, sięgając na północ do 5° szerokości geograficznej. Stałe występowanie p.k. na tych terenach wiąże się prawdopodobnie z utrzymywaniem się tam zarazka w biotopie zwierząt wolno żyjących. Z powyższych terenów epizootia przerzuca się jednak okresowo na północ do Etiopii, Somalii, Sudanu a nawet Egiptu i Azji Mniejszej. W 1944 r. i 1953 r. p.k. doszedł po raz pierwszy

do Palestyny, Syrii, Libanu i Transjordanii. W 1959 r. został zawleczony przez nomadów do Iranu (gdzie objął 80% погоłowia koni i 60% mułów i utrzymywał się do 1963 r.). W 1960 r. stwierdzono go w Afganistanie, Indii, Pakistanie, Iraku, Syrii, Libanie i Turcji, pojedyncze przypadki odnotowano w ZSRR (4, 8, 13, 14, 22). W następnych latach po zastosowaniu masowych szczepień i środków administracyjnych, w większości tych krajów choroba znikła. Jednak w 1966 r. przerzuciła się znowu (podobno po raz pierwszy w historii) przez Saharę i pojawiła się w krajach północno-afrykańskich: w Maroku, Algierii i Tunisie (11). W tymże roku stwierdzono ją również w Europie, w okolicach Gibraltaru w Hiszpanii (7, 17). Według rocznika statystycznego „Animal Health Yearbook FAO 1967” (5) w 1967 r. p.k. notowany był w następujących państwach: Afryka Płd.-Zach. (sporad.), Algieria (od niedawna), Angola (sporad.), Betszuana (dość szeroko rozp.), Czad (sporad.), Etiopia (b. szeroko rozp.), India (sporad.), Mozambik (u zw. import.), Niger (podejrz.), Nigeria (sporad.), Rep. Płd. Afryki (w niekt. rejon), Rodezja (sezonowo), Saudi-Arabia (w niekt. rejon.), Senegal (sporad.), Jemen Płd. (od niedawna), Kenia (wygasa), Kongo (sporad.), Lesoto (szeroko rozp.), Malawi (sporad.), Marokko (od niedawna), Somali (sporad.), Suazi (sezonowo), Sudan (sezonowo), Tanzania (w niekt. rejon.), Zambia (sezonowo).

Obecnie zaznacza się pewien spadek rozprzestrzeniania się choroby, jednak jak widać z powyższego przeglądu, każda następna fala zachorowań sięga coraz dalej na północ. Należy sądzić, że przerzucenie owadów zakażonych przez wiatry i samoloty przez morze Śródziemne, może w każdej chwili utworzyć nowe ogniska w Hiszpanii, Włoszech i na południu Francji (22).

Etiologia.

Pomór koni wywołuje pantropowy wirus, występujący w dużym stężeniu we krwi; dawka 0,0001 ml krwi wystarcza do przeniesienia choroby. Wirus zawiera dwupasmowy RNA. Wielkość wirionu określa-

na metodą filtracji wynosi ok. 50 nm (19), a metoda fotografii w mikroskopie elektronowym — ok. 55 nm (25). Symetria kapsydu jest kubiczna, ilość kapsomerów w kapsydzie — wg wszelkiego prawdopodobieństwa — 32 (25). Wiriony p.k. są morfologicznie zupełnie podobne do wirionów choroby siniego języka — bluetongu bydła. Sugeruje się ułożenie tych 2 zarazków w nowej grupie wirusów tzw. diplomawirusów (25). Zarazek we krwi nie jest niszczone przez żółć, taurocholan sodu (23, 24) ani też eter (2), czym różni się od arbowirusów. Poniżej pH 6 wirus p.k. szybko ginie. Zawieszony w 10% surowicy w pł. fizjol. NaCl lub w buforowanej wodzie peptonowej w +4° utrzymuje żywotność co najmniej 5–6 miesięcy bez utraty miana. W temperaturze +70° ginie w 5 min., a w 50° — w 10 min.

Budowa antygenowa wirusa p.k. nie jest jednolita. Odróżnia się już 9 serotypów (12) co musi być brane pod uwagę przy szczepieniach i próbie seroneutralizacji.

Namnażanie wirusa p.k. poza właściwymi gospodarzami może być uzyskane drogą pasażu domózgowych na białych myśkach, zwłaszcza młodocianych. Śmiertelną infekcję można wywołać również u psów. Zakażenie kontaktowe myszy można osiągnąć drogą nosową (26).

Wirus można hodować także na hodowli pierwotnej komórek nerek cieląt i chomika. Powstają przy tym zmiany cytopatyczne: zaokrąglenie i zwyrodnienie komórek oraz odpadnięcie od szkła (10, 16). Pomysłowe wyniki dały także próby zakażenia dożłotkowego 8–9 dniowych zarodków kurzych (2).

Chorobotwórczość

Najbardziej wrażliwe są konie. Śmiertelność poza ogniskami endemicznymi dochodzi do 95% i zależy od zjadliwości szczepu i rasy koni. W ogniskach endemicznych straty są dużo mniejsze. Muły giną w mniejszym odsetku. Osły i zebry są bardzo odporne, zakażenie wywołuje u nich proces chorobowy gorączkowy, jednak przeważnie bez strat. Okres nosicielstwa zarazka oceniany jest na czas do 90 dni. Zakażenie psów w warunkach naturalnych zdarza się jedynie wyjątkowo (6). Mc Intosh (15) znalazł przeciwciała neutralizujące we krwi 1 psa spośród 13 przebywających w ogniskach pomoru koni. Natomiast doświadczalnie można stosunkowo łatwo uzyskać zakażenie a nawet niekiedy śmierć u psów, przejściowe zachorowania u fretek i kóz angorskich oraz u świnek morskich i szczurów. Na domózgowe zakażenie są wrażliwe różne gatunki gryzoni — przede wszystkim myszy białe.

Epizootiologia

Zródłem zakażenia są chore konie. Ozdrowieńcy mogą być rezerwuarem infekcji w ciągu 90 dni. Według niektórych badaczy, kozy i owce mogą przebyć zakażenie bezobjawowo. Jednak w przyrodzie prawdopodobnie nosicielami są i inne zwierzęta (8).

Przenosicielami wirusa p.k. są owady krwio pijne, przede wszystkim muszki rodzaju *Culicoides* (6). Niektórzy badacze podejrzewają również komary *Aedes* sp. (*A. caballus*, *A. lineatopenus*). Mechanicznymi przenosicielami,

jak wykazano doświadczalnie, mogą być także spotykane m. in. i w Polsce bolimuszki *Stomoxys calcitrans* (21).

Wielu badaczy podkreśla sezonowy charakter szerzenia się epizootii i predylekcję do miejsc ciepłych i wilgotnych, nisko położonych. W Afryce p.k. z reguły nie występuje na terenach powyżej 500–1000 m nad poziomem morza, chociaż sporadycznie bywa obserwowany nawet na wysokości powyżej 3000 m. (1). Również w Turcji p.k. pojawił się najpierw na terenach nizinnych, chociaż potem stwierdzono go również w wilajetach wysokogórskich jak Erzerum 1850 m na pograniczu z ZSSR (4). Niektórzy badacze podkreślają dalekie przerzuty p.k. np. Dogramaski w 1961 r. w Iranie obserwował nowe ogniska o 100–150 a nawet 200 km od pierwotnie stwierdzanych (4).

Zakażenie doustne u koni nie może być wykluczone ale jest mało prawdopodobne, gdyż nawet w warunkach doświadczalnych zakażenie tą drogą wymaga bardzo dużych dawek krwi wirusowej.

Przebieg choroby

Okres inkubacyjny w warunkach naturalnych wynosi 5–9 dni (3–16 dni) zależnie od zjadliwości szczepów, rasy koni (konie importowane chorują ciężiej od miejscowych, zwłaszcza na terenach endemicznie zapowietrzonych). Pierwszym objawem jest typowa gorączka zwalnająca (*febris remittens*) utrzymująca się 3–7 dni, po czym następuje śmierć na skutkniedomogi serca, niekiedy powrót do zdrowia. Odróżnia się 4 formy kliniczne choroby (13):

a) lekka, którą cechuje tylko przejściowa 2–3 dniowa gorączka z częściową utratą apetytu. Spotykana jest przeważnie u zwierząt mniej lub więcej odpornych,

b) nadostra, płucna — występuje po 3–4 dniowym okresie inkubacji, trwa ok. 12 godzin i kończy się śmiercią. Głównymi objawami są napady kaszlu, pienisty wyciek z nozdrzy, duże obrzęki głowy, szyi i nóg, wysoka gorączka,

c) podostra, obrzękowa, sercowa — wywoływana przez szczepy o średniej zjadliwości. Cechują ją obrzęki głowy, zwłaszcza powiek i tkanek dołu nadoczołowego, przestrzeni międzyszczękowej, niekiedy szyi i nawet przednich nóg oraz wysoka temperatura sięgająca szczytu na 12–14 dzień. Zwierzę stoi z wygiętym grzbietem i opuszczoną do ziemi głową,

d) ostra mieszana wykazująca objawy zarówno ze strony płuc jak i serca.

Przy wszystkich cięższych formach obserwuje się przeważnie przekrwienie spojówek i wystąpienie na nich drobnych wybroczyn.

Zmiany anatomo-patologiczne

Zmiany są różne, zależnie od formy choroby. Przy formie płucnej stwierdza się intensywny obrzęk płuc, nierówną, obrzękową opłucną, obfity, żółtawy płyn wyciekający z naciętej tkanki międzyzrakowej, pienisty biały śluz w oskrzelach. W błonie śluzowej górnych dróg oddechowych i pod wsierdziem oraz nasierdziem liczne wybroczyny. Obrzęk, przekrwienie i wybroczyny występują również w jelitach.

Przy formie obrzękowej, na pierwsze miejsce wysuwają się obrzękowe nacieczenia tkanki tłuszczowej, zwłaszcza nad gałką oczną oraz w innych częściach głowy i ciała (4, 13).

Rozpoznanie

Przy formie płucnej i obrzękowej rozpoznanie może być stosunkowo łatwo postawione na podstawie danych klinicznych i anatomo-patologicznych. W okresie gorączki wirus można wyosobnić ze krwi przy pomocy domózgowego zakażenia białych myszek. Metoda ta daje dobre wyniki również przy użyciu zawiesiny śledziony koni padłych. Do zakażenia nadają się przede wszystkim myszki młodociane, najlepiej oseski. Śmierć u myszek-osesków może wystąpić w 100% już w pierwszym pasażu. Okres inkubacji wynosi 4–16 dni. W drugim pasażu myszki mogą padać już na 3 dzień. Poza zakażeniem domózkowym pomyślnie wyniki osiągnano i po zakażeniu dootrzewnowym (13). Ostatnio stosuje się również posiewy krwi na linię stałą hodowli komórek nerki chomika.

Podczas ostatniego przerzucenia się p.k. do Hiszpanii, wirus wyosobniono przez zakażenie domózkowe myszy w 66,6% (u 10 szt. na 15 podejrzanych klinicznie) a w 46,5% przy posiewie na hodowlę komórek BHK-21 (u 7 na 15 zbadanych) (7).

Wirus w mózgu może być wykryty również metodą OWD ze znaną surowicą. Obecność przeciwciał u rekonwalescentów wykrywa się metodą OWD, niekiedy metodą seroneutralizacji.

Zapobieganie.

Ochrona kraju wolnego od pomoru koni przed zawleczeniem tej epizootii, polega na niedopuszczeniu zwierząt nieparzystokopytnych z rodziny *Equidae* z krajów stale lub okresowo zapowietrzonych p.k. oraz zakażonych owadów.

O ile pełny zakaz importu byłby z pewnych powodów niemożliwy, ewentualny przywóz koni, mułów, osłów, zebr z krajów podejrzanych — należy dopuszczać tylko w okresie zimowym, gdy częstość zakażenia naturalnego jest mała. Zwierzęta importowane winny być zaszczepione w kraju pochodzenia co najmniej 30 dni co najwyżej 12 miesięcy przed załadunkiem na statek i uznane za zdrowe. W razie nie posiadania pełnej pewności co do spełniania tych wymogów, zwierzęta w porcie wylądowania należy poddać kwarantannie przez 30 dni w stajni należycie zabezpieczo-

nej od dostępu owadów i w tym czasie przeprowadzić próbę biologiczną (domózkowe wstrzykiwanie krwi myszkom oseskom). W razie niemożności wykonania badania, kwarantannę należy przedłużyć do 3 miesięcy (4, 8, 13, 22).

Dla zabezpieczenia kraju od zawleczenia zakażonych owadów krwiopijnych, wszystkie samoloty przybywające z krajów stale lub okresowo zapowietrzonych p.k. powinny być natychmiast po wylądowaniu poddawane dezynfekcji, a w promieniu kilku kilometrów od lotniska (a co najmniej na samym lotnisku) nie powinny się znajdować zwierzęta wrażliwe.

Ochrona w kraju już zapowietrzonym polega na niedopuszczeniu owadów krwiopijnych do koni, mułów i osłów przy pomocy repelentów, zamykanie zwierząt od zmroku do rana w pomieszczeniach zabezpieczonych od dostępu owadów, ewentualnie o ile to możliwe przeniesienie cenniejszych zwierząt na niebezpieczny okres czasu w tereny górskie wolne od owadów. Skuteczne zabezpieczenie na terenach zapowietrzonych daje jednak tylko uodpornienie czynne.

Immunoprofilaktyka

Przechorowanie zostawia pełną odporność na odnośny serotyp zarazka oraz częściowo na serotypy heterologiczne. Pierwsza metoda uodparniania — czarno-bierna Theilera (1905–1910) powodowała duże straty wśród zwierząt szczepionych (u koni 4–10%) i niebezpieczeństwo rozpowszechnienia choroby (13). Szczepionki formolowe ze śledziony koni chorych dawały niedostateczną odporność. Dopiero żywe cztero, a potem ośmio-walentne szczepionki atenuowane (drogą domózkowych pasaży przez białe myszy) okazały się dostatecznie skuteczne. Każdy serotyp musi być atenuowany oddzielnie (co wymaga ok. 100 pasaży) a potem oddzielnie namnażany na wsobnej linii albinotycznych myszy szwajcarskich, a otrzymana 10% zawiesina mózgów myszy zakażonych, oddzielnie mianowana. Minimalne miano każdego szczepu w szczepionce winno wynieść 20 000 LD₅₀/0,03 ml. Szczepionkę zaleca się stosować corocznie na 3 mies. przed sezonem p.k. Ciężkie odczyny poszczepienne przeważnie nie występują. Wyniki stosowania szczepionki w Małej Azji w 1944 r. były dobre. W 1960 r. wykazano doświadczalnie, że poliwalentna szczepionka daje 90% zabezpieczenia również w stosunku do szczepu heterologicznego.

Szczepionka u koni szczepionych powoduje między 5 a 14 dniem przejściową gorączkę, w czasie której zarazek można wyosobnić ze krwi. Zarazek wyosobniony zachowuje charakter szczepu atenuowanego (4, 8, 11, 13, 14).

Uodparnianie bierne jest zasadniczo możliwe, ale obecnie prawie nie stosowane ze wzglę-

du na konieczność użycia do uodparniania wszystkich serotypów zarazka, krótki czas odporności i możliwość przeniesienia z surowicą chorób pasożytniczych.

Leczenie

Leczenia swoistego nie ma. Zalecane jest jednak leczenie objawowe (spokój, środki nasercowe itp.).

Piśmiennictwo

1. Alexander R. A.: Onderstepoort J. Vet. Sci. anim. Husb., 4, 291, 1935.
2. Alexander R. A.: Onderstepoort J. Vet. Sci. and An. Ind. 11, 9, 1938.
3. Alexander R. A., Neitz W. O., Du Toit: Onderstepoort J. Vet. Sci. and an. Ind., 7, 17, 1936.
4. Aleksandrow B. A.: Veterinarija (Moskwa) 46, 8, 111, 1969.
5. Animal Health Yearbook FAO 1967.
6. Bevan L. L.: Vet. J., 67, 402, 1911.
7. Botija C. S., Ordas A., Ovejero I. J.: Bull. Off. int. Epiz., 68, 695, 1967.

8. Couturier J. P.: La peste equine. These de doct. vet. Alfort, 1966.
9. Du Toit R. M.: Onderstepoort J. vet. Res., 19, 7, 1944.
10. Erasmus B. J.: Nature 200, 1716, 1963.
11. Fourgi M. E.: Bull. Off. int. Epizoot., 68, 1, 715, 1967.
12. Hovell P. G.: Onderstepoort J. vet. Res., 2, 29, 139, 1962.
13. Hovell P. G.: in Röhrer's Handbuch d. Virusinfektionen bei Tieren III, 591, 1969.
14. Ivanovskij E. V., Nazarov V. P.: Veterinarija (Moskwa) 40, 70, 1963.
15. McIntosh B. M.: J. S. Afr. Vet. Med. Ass., 26, 249, 1955.
16. Mirchamsy H., Jashimi H.: Nature 198, 304, 1963.
17. Montilla R. D., Marti P.: Bull. Off. int. Epizoot., 68, 1, 705, 1967.
18. Moulé L.: Histoire de la Medecine Veterinaire Paris 1896.
19. Polson A.: Onderstepoort J. vet. Sci. an. Ind., 16, 33, 1941.
20. Polson A., Madsen T.: Biochim., Biophys. Acta 14, 366, 1954.
21. Schuberg A., Kuhn P.: Arb. Kaiserl. Gesundheits Amt 40, 209, 1912.
22. Sevs J. L.: La peste equine en Algerie. These de doct. vet. Alfort, 1967.
23. Sieber M.: Zeitschr. f. Infektkrh. d. Haustiere 10, 81, 1911.
24. Theller A.: 1901—1930 — wg Hovell 1969 (13).
25. Oellermann R. A., Els H. J., Erasmus B. J.: Arch. ges. Virusforsch. 29, 163, 1970.
26. Ozawa Y., Dardini A. H.: Arch. ges. Virusforsch., 29, 331, 1970.

Adres autora: prof. dr Tadeusz Jastrzębski, Lublin, ul. Akademicka 12.

ZBIGNIEW BACZYŃSKI

Cytodiagnostyka zakażeń enterowirusami bydła. I. Zastosowanie kultur komórek różnych narządów

Zakład Wirusologii, Instytutu Weterynarii w Puławach
Kierownik: doc. dr L. ŻEBROWSKI

Wzrost zakażeń u bydła wywołanych przez entero- i pneumotropowe wirusy wyłonił konieczność opracowania prostej i dostępnej do stosowania w rutynowej praktyce laboratoryjnej metody diagnostycznej. Rozpoznawanie zakażeń enterowirusami bydła postanowiono przeprowadzić, ze względów praktycznych i oszczędnościowych, w oparciu o technikę mikrokultur, która ułatwia znacznie szybką ocenę efektu zakażenia komórek. Aczkolwiek badania nad tymi wirusami wykonywane są powszechnie na komórkach nerki cieląt względnie płodu krów (5, 6, 8), to wydaje się jednak wskazanym, wykorzystując szerokie spektrum infekcyjności enterowirusów (7), użycie innego poza nerką modelu komórek dla badań patogenności tych wirusów *in vitro*.

Celem pracy było przebadanie przydatności kultur komórek różnych narządów bydła do badań cytodiagnostycznych w oparciu o prototypowe szczepy wirusów grupy ECBO.

Materiał i metody

Hodowle komórek różnych narządów płodu krów: nerka, skóra, płuco, jelito cienkie, śledziona oraz węzłów chłonnych dorosłego bydła zdrowego i dotkniętego białaczką inkubowano w mikrokulturach na szkiełkach przedmiotowych o wymiarach $2,5 \times 0,5$ cm, umieszczonych w probówkach typu Leighton (ryc. 1) wg techniki podanej przez Lepine (3).

Podłoże wzrostowe komórek składało się z płynu Parkera zmieszanego w równych częściach z płynem Hanksa z dodatkiem 10% surowicy cielęcej.



Ryc. 1. Probówka Leighton oglądana w położeniu poziomym. Wyżej widoczne szkiełko z mikrokulturą komórek.

Po uzyskaniu pełnego pokrycia szkiełek jedno-warstwową hodowlą komórek zakażano je enterowirusami z grupy ECBO: H-786 Mayr (1), 100-B Luginbuhla (4) i LCR₄ Kunina (2) oraz szczepem węgierskim D-61. Komórki zakażano metodą bezpośrednią do płynu utrzymującego, w ilości 0,2 ml zawiesiny pochodzącej z zakażonej hodowli komórek na 2 ml płynnego podłoża w probówce.

Zakażone komórki inkubowano stacjonarną metodą w temperaturze 37°C przez okres 7—10 dni i obserwowano pojawianie się efektu cytopatycznego (CPE) na szkiełkach. W przypadku stwierdzenia efektu cytopatycznego, w postaci zniszczenia przynajmniej połowy powierzchni warstwy komórek (CPE-50%), szkiełka przedmiotowe wyjmowano z probówek a znajdujące się na nich komórki barwiono metodą Pappenheima.

W celu sprawdzenia swoistości efektu użyto specyficznych surowic odpornościowych, wyprodukowanych uprzednio na królikach, które mieszano w równych częściach ze 100 TCID₅₀% wymienionych szczepów wirusowych, poddanych, bezpośrednio przed zakażeniem komórek, działaniu neutralizującemu surowicy w temperaturze 37°C przez okres 1 godz.

Wyniki i dyskusja

Próby rozpoznawania zakażenia mikrokultur komórek różnych narządów badanymi enterowirusami wypadły dodatnio, gdyż we wszyst-