

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

JERZY KITA

Izolacja wirusa zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy (IBR) z ogniska bronchopneumonii młodego bydła*)

Z Zakładu Epizootologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych
Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR w Warszawie

Schorzenia układu oddechowego bydła wywołane przez wirus zakaźnego zapalenia jamy nosowej i tchawicy bydła (IBR) opisano w 1954 r. w USA (6). Na podstawie obserwacji klinicznych występowanie tej choroby stwierdzono już w 1950 roku u bydła opasowego w stanie Colorado pod synonimami „czerwony nos”, „martwicowe zapalenie nosa”, „martwicowe zapalenie nosa i tchawicy”. Dopiero w 1955 r. na zjeździe naukowym w USA przyjęto nazwę infectious bovine rhinotracheitis (IBR) — (6, 7). Powszechnie więc przyjmuje się 1955 rok jako datę opisania tej choroby układu oddechowego u bydła w St. Zjedn. Am. Płn. W rok po tym zjeździe wirus został wyosobniony w hodowli komórek i zaliczony do grupy *Herpes* wirusów (1, 5, 8).

Od czasu identyfikacji wirusa IBR pojawiają się doniesienia z różnych krajów o wyosobnieniu tego wirusa niemal na całym świecie (3, 4). Ostatnio Baczyński (2) na łamach „Medycyny Weterynaryjnej” omówił najważniejsze zagadnienia związane z zakażeniem wywołanym przez wirusa otrętu oraz zakaźnego zapalenia nosa i tchawicy bydła.

Historia choroby

W jednym z Rolniczych Zakładów Doświadczalnych SGGW-AR prowadzono opas bydła w budynku tzw. obory letniej dodatkowo ocieplanej na zimę. Obornik przez okres zimy nie był usuwany. Spełniał on rolę dodatkowego czynnika ocieplającego. W marcu 1971 r. z powodu wyraźnego ocieplenia bukaty wypuszczono na wybieg. W ciągu pierwszego dnia przebywania zwierząt na wybiegu wystąpiły przelotne deszcze i zwierzęta zmokły. W nocy zaś temperatura spadła poniżej zera, w pomieszczeniu wynosiła około -4°C . Oziębienie wewnątrz budynku spowodowane było dodatkowo usunięciem nawozu. Po 3 dniach od czasu przebywania zwierząt na wybiegu i spadku temperatury wśród opasów wystąpiły pierwsze objawy kaszlu, silnej duszności, wypływu z nosa, utraty apetytu oraz podwyższonej ciepłoty ciała w granicach $40,0 - 41,5^{\circ}\text{C}$. Ogólna liczba zwierząt w pomie-

szczeniu w dniu zachorowania wynosiła 120 opasów. Przebieg kliniczny choroby był ostry. Dwa buhaje padły, dalszych 16 z nasilonymi objawami choroby skierowano do uboju z konieczności. Pozostałe zwierzęta — podejrzane o zakażenie wykazujące zachowany apetyt otrzymały sulfametazynę doustnie przez 3 dni, a chore w początkowym okresie choroby i podejrzane o chorobę — dodatkowo antybiotyki (Oxyvet, Detreomycyna).

Materiał i metody

Do badań wirusologicznych pobrano wymazy z nosa od 8 chorych zwierząt oraz wycinki płuc od 2 padłych. Wymazy pobierano jałowymi tamponami z waty i umieszczano w probówkach, do których uprzednio rozlano płyn Hanksa z dodatkiem antybiotyków. Materiał przewożono do laboratorium bez chłodzenia, a następnie zamrażano w temperaturze -20°C do czasu badania. Z wycinków płucnych przygotowano zawiesinę 20%, którą przechowywano do momentu badania również w temperaturze -20°C .

Do wyosobnienia wirusa użyto hodowli komórek nerki zarodkowej bydła (HKNZB). Hodowlę komórek prowadzono przy użyciu płynu Hanksa z dodatkiem 10 — 15% surowicy cielęcej. Przed zakażeniem komórek zmieniano płyn odżywczy na utrzymujący bez dodatku surowicy. Komórki obserwowano codziennie zwracając uwagę na obecność zmian cytopatycznych (CPE). Identyfikację wirusa oparto na porównaniu ze szczepem standardowym*) pod względem cytomorfologicznym, w odczynie seroneutralizacji (SN) wykonanym metodą alfa ze swoistą surowicą odpornościową i ujemną kontrolą oraz w odczynie immunofluorescencji*) — metodą bezpośrednią. Do testu immunofluorescencji hodowle komórek zakładano w probówkach Leightona na lamelkach. Po utrwaleniu i potraktowaniu konjugatem hodowli komórek, lamelki przyklejano na szkiełka podstawowe preparatem „Eukitt**”). Preparaty oceniano w zestawie od immunofluorescencji: mikroskop z palnikiem HBO-50 produkcji E. Zeiss Jena, filtry wzbudzające UG1 oraz ochronne GG9 i GG9/OG1.

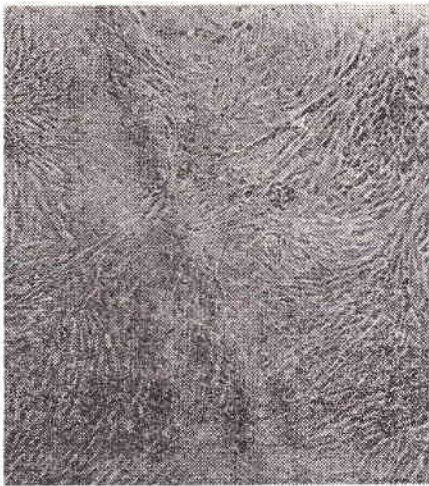
Wyniki

Z wymazów z nosa od 4 zwierząt wyosobniono wirus, który powodował zmiany cytopatyczne (CPE) do 48 godzin w HKNZB w pasażu wyjściowym. Z zawiesiny tkanki płucnej od jednego zwierzęcia uzyskano również efekt — CPE w ciągu 48 godzin po zakażeniu HKNZB. Obraz zmian

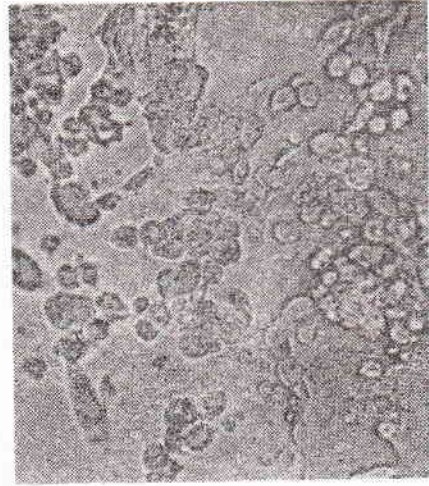
*) Izolacja miała miejsce w 1971 r. Wówczas było to pierwsze w kraju ognisko bronchopneumonii, wywołanej przez wirus IBR potwierdzone wirusologicznie. Doniesienie zamieszczono w Pamiętniku V Zjazdu PTNW, Olsztyn — 1974.

*) Szczep standardowy wraz z surowicą dodatnią i ujemną oraz konjugat otrzymano od prof. dr J. H. Gillespie z Cornell University USA. Autor składa serdeczne podziękowanie Prof. Gillespie za udostępnienie ww. materiałów.

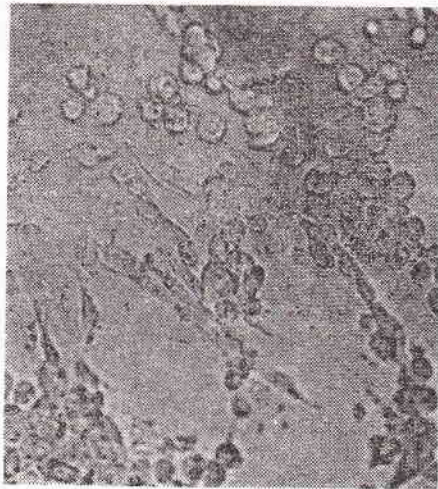
***) Schmid Co., Stuttgart — Untertürkheim.



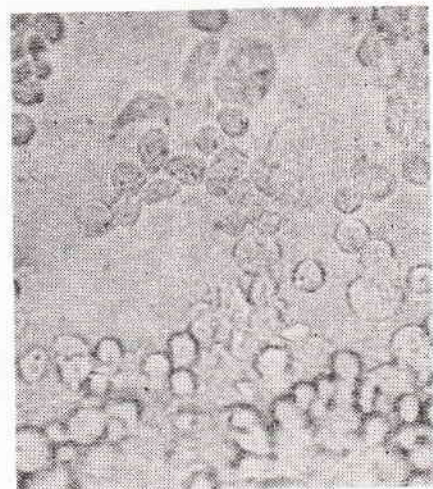
Ryc. 1. Ośmiodniowa hodowla komórek nerki zarodkowej bydła (HKNZB), nie zakażona, nie barwiona pow. 100×



Ryc. 3. Efekt cytopatyczny po 48 godzinach od zakażenia HKNZB szczepem B-184/71



Ryc. 2. Efekt cytopatyczny po 48 godzinach od zakażenia HKNZB szczepem B-1048/71



Ryc. 4. Efekt cytopatyczny po 48 godzinach od zakażenia HKNZB szczepem B-551 Pl./71

w hodowli komórek oraz szybkość powstawania efektu cytopatycznego mogły wskazywać na obecność szczepów wirusa z grupy *herpes* bydła. Szczepy te oznaczono B-1048/71, B-184/71, B-21/71, B-26/71, B-551/71/Pl. Miano $TCID_{50}$ po pierwszych 3 pasażach obliczone według metody Reeda i Muencha było stosunkowo niskie i wynosiło dla 3 szczepów $10^{-3.5}$ i dla pozostałych dwóch szczepów $10^{-3.0}/0,1$ ml. Dopiero w dalszych pasażach wybranych dwóch szczepów uzyskano wzrost miana do $10^{-5.0}/0,1$ ml. Pod względem cytomorfologicznym — obraz zmian w hodowli komórek był jednakowy w porównaniu ze szczepem standardowym. Dalszą identyfikację przeprowadzono w odczynie seroneutralizacji z dodatnią surowicą standardową. Uzyskano hamowanie efektu cytopatycznego zarówno ze szczepem standardowym, jak i szczepami wyosobnionymi. Podczas gdy surowica ujemna (kontrolna) nie chroniła przed wystąpieniem efektu cytopatycznego. Dalszą identyfikację

przeprowadzono w oparciu o odczyn immunofluorescencji. W odczynie tym, wykonanym metodą bezpośrednią, uzyskano wynik dodatni (świecenie swoiste) w 24, 48 i 72 godziny po zakażeniu. Liczba komórek wykazujących świecenie była największa po 48 godzinach. Po 73 godzinach odczyn był dodatni, jednak zbyt wiele komórek ulegało już zniszczeniu przez wirus.

Identyczne właściwości cytomorfologiczne oraz serologiczne w odczynie SN i immunofluorescencji wskazują, że wyosobnione szczepy wirusa wykazują podobieństwo ze szczepem standardowym IBR.

Wniosek

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że w etiologii bronchopneumonii bydła w kraju wirus IBR może odgrywać pewną rolę.

Piśmiennictwo

1. Armstrong J. A., Peretra H. G., Andrews C. R.: *Virology* 14, 276, 1961
2. Baczyński Z.: *Medycyna Wet.* 34, 426, 1977.
3. Gibbs E. P. J., Rweyemamu M. M.: *Vet. Rec.* 47, 5, 1977.
4. Gibbs E. P. J., Rweyemamu M. M.: *Vet. Rec.* 47, 6, 1977.
5. Madin S. H., York C. J., McKercher D. G.: *Science* 124, 721, 1956.
6. McKercher D. G., Moulton J. E., Jasper D. E.: *Proc. U. S. Livestock Sanit. Ass.* 58, 260, 1955 a.
7. McKercher D. G., Moulton J. E., Kendrick J. W., Saito J. K.: *Proc. U. S. Livestock Sanit. Ass.* 59, 151, 1955 b.
8. York C. J., Schwarz A. J. F., Estela L. A.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 94, 740, 1957.

Adres autora: doc. dr habil. Jerzy Kita, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa.

Кита Е. — Изоляция вируса инфекционного воспаления носа и трахеи из очага бронхопневмонии молодого крупного рогатого скота.

В марте 1971 г. на одной из откормочных баз крупного рогатого скота были обнаружены острые симптомы пневмонии. Из взятых мазков из носа и отрезков легких в культуре клеток зародышевой почки крупного рогатого скота было изолировано 5 штам-

мов вируса. Идентификация изолированных штаммов опиралась на сравнение со стандартным штаммом в цитоморфологическом отношении в реакции сывороточной нейтрализации с положительной и отрицательной сывороткой и в реакции иммунофлуоресценции. Полученные результаты показывают сходство изолированных штаммов со стандартным штаммом.

Kita J. — Isolation of infectious bovine rhinotracheitis (IBR) virus from beef cattle with the symptoms of pneumonia.

In march 1971 in one of the cattle feedlot farm a severe respiratory symptoms were observed. By the use of tissue cell cultures of embryonic bovine kidney 5 strains of virus were isolated from nasal swabs and lungs.

Identification of the isolated strains was based on the cytomorphological properties and by the use of serum neutralization test with positive and negative sera and fluorescent antibody test. The strains were compared with the American IBR standard strain. The results indicated the relationship the isolated strains to the American IBR standard strain.

ADAM DZIERŻAWSKI, ZBIGNIEW BACZYŃSKI, KAZIMIERZ WIŚNICKI

Przypadek niesztowicy u owiec

Z Zakładu Wirusologii Instytutu Weterynarii w Puławach

Z Lecznicy dla Zwierząt w Kąkolewnicy

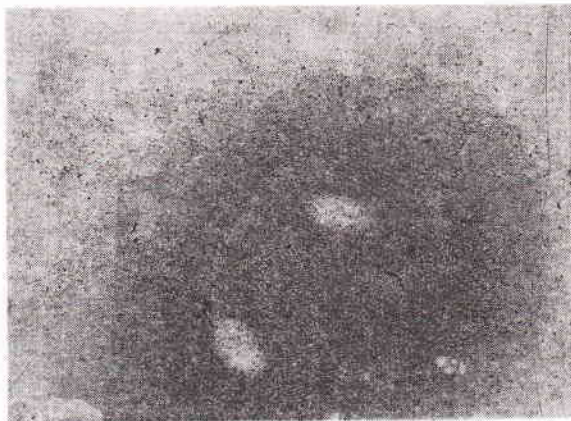
Obserwowany w ostatnich latach rozwój hodowli owiec, która z tradycyjnych, drobnotowarowych form chowu przekształca się w hodowlę wielkostatną, organizowaną na warunkach ferm przemysłowych, stawia nowe wymogi w zakresie profilaktyki weterynaryjnej, szczególnie w odniesieniu do swoistych dla dużej aglomeracji zwierząt chorób wirusowych (2).

Spośród wielu schorzeń wirusowych, ważne znaczenie ekonomiczne, przede wszystkim ze względu na eksport owiec, przedstawia niesztowica. Niesztowica — *ecthyma contagiosum* lub krostkowe zapalenie skóry — *dermatitis pustulosa*, jest to zaraźliwa choroba, uważana za zoonozę (6), wywoływana przez wirus epiteliotropowy, należący do grupy pox (4).

Pierwsze przypadki tego schorzenia na świecie, jak podaje Trueblood, wystąpiły w latach 1923—1941 (12), natomiast w Polsce pierwsze doniesienia na temat niesztowicy podali: Żuliński 1951 r. (15), Chodkowski i Żebrowski 1952 r. (3), Zadura i Nieć 1955 r. (13) oraz Kozłowski i Dziekoński w 1966 r. (5). W późniejszych latach, w dostępnym piśmiennictwie fachowym nie spotyka się doniesień na temat tej jednostki chorobowej u owiec.

Opisywany przypadek niesztowicy zaobserwowano w bazie POZH w K., gdzie zakupowane z gospodarstw indywidualnych owce przetrzymywano okresowo przed wysyłką na eksport. W okresie poprzedzającym wysyłkę zwierząt wykonano zalecone badania kliniczne. Na miesiąc przed terminem wysyłki owce zaszczepiono, zgodnie z wymogami odbiorcy, prze-

ciwko niesztowicy. Po trzech tygodniach od daty zaszczepienia zauważono u 40 owiec, na 319 zaszczepionych (tj. u 12,3% zwierząt), w okolicy kąta warg strupy barwy ciemnobrązowej. Innych objawów nie zauważono. Od podejrzanych o chorobę owiec pobrano strupy i przesłano do Zakładu Wirusologii, celem wykonania badań diagnostycznych. Otrzymany w postaci strupów materiał umieszczano w płynie fizjologicznym w stosunku 1:4, po czym homogenizowano i wiroowano przy niskich obrotach (1200 obr./min.). Po odwirowaniu płyn z nad osadu badano, po uprzednim barwieniu negatywowym, w mikroskopie elektronowym. Badanie pozwoliło wykryć cząsteczki wirusa, które zidentyfikowano jako wirus niesztowicy (ryc. 1).



Ryc. 1. Wirus niesztowicy, barwienie negatywowe, pow. 135.000 X