

KRYSTYNA LISOWSKA, KAZIMIERZ LISOWSKI

## Odczyn precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym w diagnostyce choroby Gumboro

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Poznaniu

Diagnostyka choroby Gumboro (zakaźnego zapalenia torby Fabrycjusza) opiera się wg różnych autorów (1, 3, 4, 5, 6, 7) na objawach klinicznych i przebiegu choroby, badaniach anatomicznych i histopatologicznych, badaniach wirusologicznych oraz na odczynach serologicznych, takich jak: immunofluorescencja, seroneutralizacja, test wrażliwości na zarodkach i odczyn precypitacji w żelu agarowym (OPŻ).

Okres inkubacji choroby wg Winterfield (8) wynosi 48 godzin. Zakażeniu ulegają ptaki młode w wieku 2—16 tyg. życia, najczęściej kurczęta w wieku 3—5 tyg. Obraz kliniczny przypomina ostrą postać kokcydiozy. Choroba zaczyna się nagle i objawia się apatią, nastroszeniem piór, biegunką. Kurczęta przysiadają na skokach, przewracają się i leżą z wyciągniętą szyją lub kończynami, a stosowanie kokcydiostatyków nie przynosi poprawy.

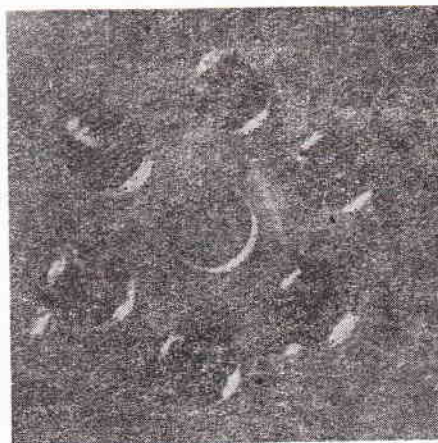
W obrazie sekcyjnym padłych i dobitych ptaków obserwuje się wybroczyny aż do wylewów krwawych w mięśniach piersiowych i udowych oraz na błonach surowiczych głównie żołądka, wybroczyny i zielone galaretowate nacieki w tkance podskórnej głowy, okolicy wola, klatki piersiowej, jamy brzusznej. Torba Fabrycjusza powiększona, w błonie śluzowej torby obserwuje się wybroczyny. Niekiedy cała torba jest wypełniona włóknikowo-krwistą masą. Opisany obraz zmian sekcyjnych obserwujemy wówczas, jeśli zakażeniu ulegają ptaki bardzo młode i przy pierwszych zakażeniach w środowisku. Dość często jednak jak podają Langraf i wsp. (5) a także Kösters (2), nie obserwuje się typowych objawów klinicznych i zmian anatomopatologicznych. Jeśli zakażeniu ulegają kurczęta starsze lub posiadające matczyne przeciwciała, przebieg choroby oraz zmiany anatomopatologiczne są niespecyficzne. Niejednokrotnie poza involucją torby Fabrycjusza i błądzą nerek innych zmian się nie zauważa i te przypadki sprawiają najwięcej kłopotów diagnostycznych.

Badanie wirusologiczne, mające na celu izolację i identyfikację wirusa, napotyka na trudności przede wszystkim dlatego, że wirus w torbie Fabrycjusza można stwierdzić tylko w okresie 48—96 godz. od momentu zakażenia, a materiał do badania przesyłany jest później gdy torba Fabrycjusza już jest w zaniku.

W okresie 10—14 dni od zakażenia w surowicy krwi pojawiają się swoiste przeciwciała, które można wykryć w teście SN na zarodkach kurzych lub metodą precypitacji w żelu agarowym. Metodą z wyboru spośród wielu stosowanych jest OPŻ ze względu na łatwość jego wykonania i niski koszt. Kösters (2) uważa OPŻ jako szczególnie przydatny do wykrywania swoistych przeciwciał przy chorobie Gumboro. Odczyn ten może być również stosowany do wykrywania obecności w torbie Fabrycjusza swoistego antygeny. Przydatność jednak tej reakcji ograniczona jest do krótkiego okresu od 3—5 dnia po infekcji.

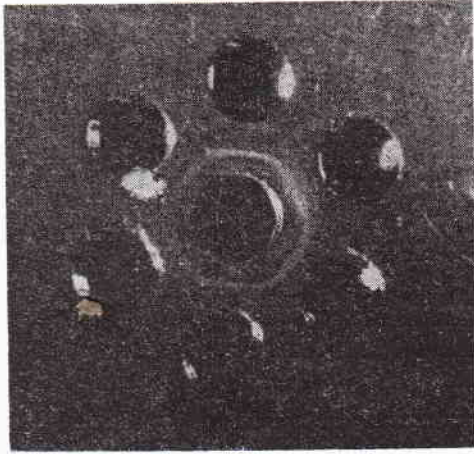
### Materiał i metody

Odczyn wykonano wg ogólnie przyjętej metody precypitacji w żelu agarowym dla surowic kurzych. 1,5% agar Difco przygotowany na 8% roztw. NaCl, pH agaru 7,0—7,2 rozlewano na płytki dł. 15 i szer. 10 cm bezpośrednio przed użyciem. Grubość warstwy agaru wynosiła 4 mm, średnica baseniku 4 mm, odległość między basenkami 4 mm. Później w celu oszczędzania antygeny i surowic kontrolnych zaczęto stosować baseniki o średnicy 3 mm i odległości między basenkami 3 mm, co nie miało wpływu na przebieg reakcji. Używano antygeny i surowic kontrolnych prod. Veterinär-Labor Lohmann (RFN). Według prospektu producenta antygen stanowią torby Fabrycjusza 3—5 tyg. kurcząt zakażonych szczepem wirusa IBA 2512, zhomogenizowane i zagęszczone, natomiast surowice kontrolne produkowane są na kurczętach SPF. Odczyn nastawiano napełniając do menisku wypukłego basenik środkowy antygenem, baczne baseniki surowicami



Ryc. 1.

badanymi. Dla każdej badanej partii surowic nastawiano w jednej rozetce kontrolę antygenu z surowicami kontrolnymi dodatnią i ujemną (ryc. 1). Odczyn inkubowano w komorze wilgotnej w temp. 37°C przez 16—24 godz. Pierwszego odczytu dokonywano po 16—24 godz., następnego po 48 godz. Typowe linie precypitacyjne dla wirusa choroby Gumboro pojawiały się już po 16 godz. (ryc. 2).



Ryc. 2.

Materiał stanowiły surowice krwi kurcząt i kur z różnych stad. Każdorazowo badano uznaną za reprezentatywną liczbę 25 prób krwi z kurnika.

### Wyniki i omówienie

Łącznie przebadano 2500 surowic kurzych pochodzących z 40 różnych stad. W surowicach z 28 stad uzyskano wyniki dodatnie w OPŻ w postaci typowych linii precypitacyjnych. W 16 stadach uzyskano wyniki dodatnie w 100%, a w 8 stadach 80—85% badanych surowic. W 4 stadach przeprowadzono dwukrotne badanie krwi: I — na początku choroby, II — po 2 tygodniach. Jak wynika z tab. 1 w I badaniu stwierdzono wyniki ujemne lub jedynie w małym procencie surowic dodatnie, natomiast w II badaniu uzyskano wyniki dodatnie ze wszystkimi surowicami.

Tab. 1. Wyniki TPŻ w stadach badanych dwukrotnie

Stado	Liczba badanych		Wyniki dodatnie			
	I badanie	II badanie	I badanie		II badanie	
			liczba	%	liczba	%
I	30	30	0	0	30	100
II	10	10	2	20	10	100
III	12	22	2	16	22	100
IV	20	17	0	0	17	100

Badaniem objęto stada kur rasy mięsnej i nieśnej czystych linii prarodziców oraz stada brojlerów. Typowe objawy kliniczne i patognomiczne zmiany sekcyjne obserwowano w stadach brojlerów, gdzie choroba wystąpiła po raz pierwszy, a zakażeniu ulegały kurczęta mło-

de. Ptaki ulegające późniejszemu zakażeniu nie wykazywały typowych objawów klinicznych i sekcyjnych, a o przebytych zakażeniu świadczyły dodatnie reakcje w OPŻ oraz większa podatność ptaków na zakażenia wtórne jako następstwo zniszczenia układu immunologicznego. W kilku stadach stwierdzono zakażenia adenowirusami, pałeczkami *E. coli* i *S. typhimurium*. Prawie we wszystkich badanych stadach brojlerów chorobie Gumboro towarzyszyła bardzo trudno lecząca się kokcydioza. W efekcie przedłużał się okres tuczu o 2—3 tygodnie.

Stwierdzane dodatnie reakcje w OPŻ w stadach kur dorosłych świadczą o znacznym rozprzestrzenieniu wirusa choroby Gumboro w środowisku, a tym samym o istnieniu niebezpieczeństwa dla stad brojlerów.

W świetle tych spostrzeżeń OPŻ można uznać jako metodę przydatną do diagnostyki choroby Gumboro. Jest to odczyn swoisty i łatwy do wykonania i może być stosowany do badań rutynowych w Zakładach Higieny Weterynaryjnej.

### Piśmiennictwo

1. Ayoub N. N. K., Malek G.: Mh. Vet.-Med. 31, 106, 1976.
2. Kösters J., Geissler H.: Tierarztl. Umsch. 26, 573, 1971.
3. Lancaster J. E.: Raport NR 215. XLVth General Session of the OIE Committee, Paris, 23—28 May 1977.
4. Langraf H.: Vortrag, gehalten auf HNL — Vermehrertagung am 16. 11. 1976.
5. Langraf H., Vieltitz E., Kirsch H.: Dtsch. Tierztl. Wschr. 74, 6, 1967.
6. Ulbrich F., Zureck J.: Mh. Vet.-Med. 32, 588, 1977.
7. Yadin H., Hoekstra J.: Raport 212. XLVth General Session of the OIE Committee, Paris, 23—28 May 1977.
8. Winterfeldt R. W.: Av. Dis. 13, 548, 1969.

Adres autora: lek. wet. Krystyna Lisowska, ul. E. Raczyńskiego 72, 60-465 Poznań.

Autorzy serdecznie dziękują za pomoc techniczną laborantkom pani Wandzie Jeremcz i pani Jadwidze Cholewińskiej.

Лисовская К., Лисовский К. — Тест преципитации в агаровом геле в диагностике болезни Гумборо.

При помощи теста преципитации в агаровом геле исследовали 2500 куриных сывороток из 40 различных stad. В сыворотках из 28 stad получили положительные результаты в виде типичных преципитационных линий. В 4 stadach исследовали кровь двукратно с 2-недельным перерывом, обнаруживая процентный рост положительных результатов в стаде.

В оценке авторов этот тест по причине его достаточной чувствительности пригоден для рутинowych исследований, имеющих целью показание актуального иммунологического состояния стада по отношению в вирусу болезни Гумборо.

Lisowska K., Lisowski K. — The agar gel precipitation in diagnosis of Gumboro disease.

There were examined in the agar gel precipitation test 2500 sera of hens from 40 flocks. Positive results in the form of typical precipitin lines were obtained with the sera from 28 flocks. In four flocks in which sera were examined twice at 2 week interval, an increase of positive results was noted.

According to the authors, the agar gel precipitation test by its sensitivity can be introduced for routine examinations of an immunologic state of a flock examined for the presence of Gumboro disease virus.