

JAN BUCZEK, BOGUMIŁ ROKOSZ, GRAŻYNA WRZOLEK-ŁOBOCKA

Izolacja wirusów z przypadków keratoconjunctivitis bydła

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Zakaźne *keratoconjunctivitis* bydła jest syndromem chorobowym obserwowanym dość często u tego gatunku. Liczne prace (1, 8, 10) dotyczące etiologii dowodzą, że przyczyną zakaźnego *keratoconjunctivitis* bydła mogą być infekcje bakteryjne, zakażenia wywołane przez mykoplazmy, riketsje, wirusy i inne czynniki. W naszym kraju zakaźne *keratoconjunctivitis* u bydła występuje dość często, a badania nad etiologią choroby podejmowało wielu autorów (5, 6, 7, 9, 11). W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono częste występowanie bakterii *Moraxella bovis*, uznanej za jeden z czynników etiologicznych tego syndromu chorobowego. Podejmowane próby izolacji wirusów kończyły się wynikiem negatywnym.

W niniejszej pracy autorzy donoszą o wyisobnieniu z przypadku zakaźnego *keratoconjunctivitis* bydła wirusów. Jest to pierwsze doniesienie o izolacji wirusów z przypadków *keratoconjunctivitis* bydła w Polsce.

Materiał i metody

Badaniami objęto fermę bydła rzeźnego w wieku 6 tyg.—2 lat, w której od kilku lat obserwowano zakaźne *keratoconjunctivitis*. Schorzenie rozwijało się najczęściej u zwierząt w wieku 6—12 miesięcy i w pierwszym okresie funkcjonowania fermy występowało sporadycznie. W miarę upływu lat ilość zachorowań rosła, obejmując w ostatnich 2 latach około 70% zwierząt — zwłaszcza w sprzyjającym, jak się wydaje dla rozwoju i przebiegu choroby, upalnym okresie letnim. Podejmowane próby identyfikacji czynnika etiologicznego wykazywały występowanie w oczach chorych zwierząt dość różnorodnej flory bakteryjnej. Wśród izolowanych (przy pomocy rutynowych badań bakteriologicznych) zarazków identyfikowano najczęściej bakterie z rodziny *Neisseriaceae*, *Micrococcaceae* oraz gramujemne pałeczki, nie stwierdzono jednak *Moraxella bovis*. Badania wirusologiczne prowadzono na pierwotnych hodowlach komórek nerek cieląt (HKNC), lub komórek nerek embrionów cieląt (HKENC). Hodowle komórek przygotowywano wg rutynowych metod i jednowarstwowe hodowle zakażano wymazami z oczu chorych zwierząt. Wymazy pobierano w różnym okresie klinicznym schorzenia do płynu Hanksa z dodatkiem antybiotyków (4). Zakażone hodowle badano mikroskopowo na obecność efektu cytopatycznego (CP), po zabarwieniu hematoksyliną i eozyną na obecność ciałek wtępowych, oraz odczynem hemadsorpcji (4). Ogółem przebadano 53 wymazy, które przepasażowano trzykrotnie na hodowli komórek i jeżeli nie stwierdzono zmian jednym z wymienionych testów, materiał uznawano za ujemny. Izolowane na hodowli komórek wirusy badano przy pomocy metod fizyczno-chemicznych i serologicznych, zmierzających do identyfikacji zarazka.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań wirusologicznych 53 wymazów z oczu zwierząt chorych wśród objawów zakaźnego *keratoconjunctivitis*, które pobrano

w różnym okresie od nie stykających się ze sobą grup zwierząt zestawiono w tab. 1.

Ilość wyizolowanych zarazków w poszczególnych grupach zwierząt wahała się od 0 do 2, a ogółem wyizolowano z wymazów spojówkowych chorych zwierząt 4 szczepy wirusów. Przy pomocy badań fizyczno-chemicznych i serologicznych stwierdzono, że 3 odpowiadają kryteriom wirusa PI-3, jeden wirusowi IBR-IPV.

Tab. 1. Wyniki badań wirusologicznych wymazów z oczu cieląt z objawami *keratoconjunctivitis* na HKNC

Nr grupy	Ilość badanych zwierząt	Dodatnich	Ujemnych	Izolowany wirus
1	17	0	17	PI-3
2	5	1	4	
3	11	0	11	
4	10	2	8	PI-3
5	10	1	9	IBR
Razem:	53	4	49	3-PI3; 1-IBR

W tab. 2 zestawiono wyniki badań nad identyfikacją izolowanych zarazków, a ryc. 1, 2, 3 ilustrują zmiany cytopatyczne w hodowlach komórek, jakie obserwowano w pierwszym (IBR), i trzecim (PI-3) pasażu na hodowlach komórek embrionów nerek cieląt. Fakt izolacji wirusów PI-3 z wymazów spojówkowych aż w trzech przypadkach wymaga bardzo ostrożnej oceny. Zwierzęta wśród których prowadzono badania były bowiem regularnie immunizowane żywą atenuowaną szczepionką zawierającą wirus PI-3, a uodpornianie przeprowadzono metodą donosową lub aerozolową. Nie można zatem wykluczyć, iż izolowane wirusy



Ryc. 1. HKNC — kontrola

Tab. 2. Właściwości fizyczno-chemiczne i serologiczne wirusów izolowanych z oczu cieląt

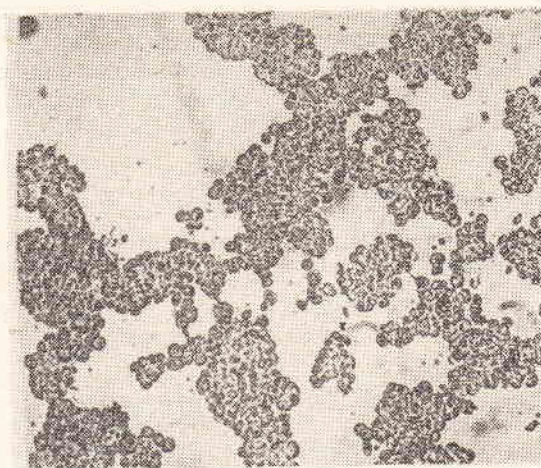
Szczep	Kontrola *	IUDR 100µg/ml *	CHCl ₃ 10% 24 godz.	100°C 5 min.	Odczyn hemad- sorbcji	Miano wirusa w HA	Odczyn SN-ND ₅₀			Surowica PI-3 Odczyn HJ
							Dawka wirusa TCID ₅₀	Surowica IBR	Surowica IPV	
IBR — szczep izolowany z oka	6,0	3,67	—	—	—	—	31	1:20	1:28	
IBR — szczep kontrolny	5,5	3,50	—	—	—	—	43	1:30	1:30	
PI-3 z oka	5,5	6,0	—	—	++	1:320	95	< 1:2	< 1:2	1:640
PI-3 z oka	5,5	5,5	—	—	+	1:1280				1:80
PI-3 z oka	6,0	6,0	—	—	++	1:640				1:320
PI-3 Lublin 1 szczep kon- trolny	6,0	6,0	—	—	+++	1:160	80	< 1:2	< 1:2	1:640

Objaśnienia: — brak wzrostu lub reakcji, * wartość w log TCID₅₀ — 0,1 ml.

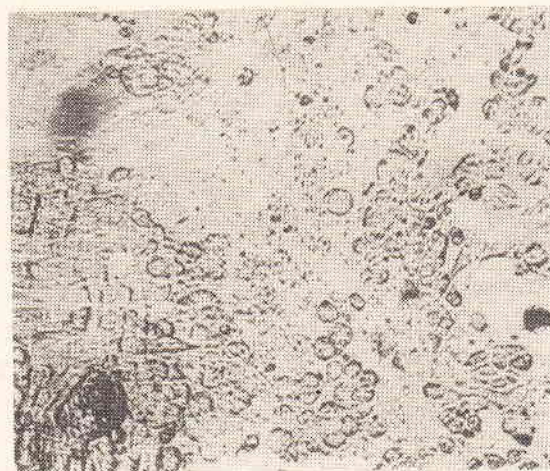
PI-3 nie są szczepami szczepionkowymi, chociaż od chwili immunizacji upłynęło kilka tygodni. Trudno jest odpowiedzieć, jaka jest rola izolowanych wirusów PI-3 w obserwowanym schorzeniu i czy są to ewentualnie szczepy „dzikie”. Pierwsze wyniki badań, szczególnie ze szczepem PI-3, który stosunkowo trudno, bo dopiero po 3 ślepych pasażach spowodował wyraźny efekt cytopatyczny i silną hemadsorpcję czerwonych krwinek zdają się wskazywać na adaptację tego zarazka do hodowli komórek, co sugeruje, że może on być szczepem terenowym.

Wysobnienie wirusa IBR-IPV nie budzi podobnych zastrzeżeń jak w przypadku izolacji PI-3. W fermie nigdy nie stosowano szczepień wirusem IBR-IPV żywym lub inaktywowanym. Wirus IBR-IPV może powodować u bydła różne kliniczne postacie schorzenia. Prowadząc badania zwracano uwagę na rozwój i przebieg chorób zakaźnych występujących na fermie pod kątem występowania wirusa IBR. Obserwowane enzootie bronchopneumonii, jakie występowały u cieląt w okresie adaptacji, pod względem klinicznym i na podstawie wyników wirusologicznych i serologicznych z tego okresu nie wskazywały na występowanie wirusa IBR na fermie. Po okresie adaptacji cieląt do środowiska i przesunięciu zwierząt do budynków opasów, bronchopneumonia w zasadzie nie występowała, a jak wspomniano — przypadki zakaźnego *keratoconjunctivitis* pojawiały się sporadycznie, najczęściej u zwierząt starszych — w wieku powyżej półtora roku.

W ostatnich 2 latach zaobserwowano wśród zwierząt bardzo wysoki (około 70%) zachorowań i znaczną zaraźliwość schorzenia diagnozowanego klinicznie jako zakaźne *keratoconjunctivitis*. Mimo pozytywnych wyników leczenia schorzenia antybiotykami przeciwbakteryjnymi nie udało się przy użyciu wyizolowa-



Ryc. 2. Zmiany CP w HKNC w 48 godz. po zakażeniu wirusem IBR



Ryc. 3. Zmiany CP w HKNC w 4 dni po zakażeniu wirusem PI-3

nych od chorych zwierząt bakterii zakazić w warunkach doświadczalnych zwierząt zdrowych. W związku z tym wysunięto przypuszczenie, że w obserwowanych przypadkach, pierwotnym czynnikiem zakaźnym może być wirus IBR, który, jak wynika z danych piśmiennictwa (1, 8, 10), może powodować opisane schorzenie. Wyizolowany szczep IBR-IPV w warunkach doświadczenia wywołał u 5 spośród 6 zakażonych dospójówkowo cieląt silne objawy kliniczne zapalenia spojówek. Wyizolowanie wirusa IBR w objętym badaniami obiekcie ma istotne znaczenie poznawcze i praktyczne. Warto podać, że pierwsze próby immunizacji inaktywowaną szczepionką, przygotowaną z izolowanego szczepu IBR wypadły jak dotychczas pomyślnie, doprowadzając do znacznego ograniczenia zachorowań. W grupie 54 bukatów wagi 180–200 kg uodpornionych przez dwukrotne podanie w odstępie 10 dni po 5 ml szczepionki, w ciągu dwumiesięcznej obserwacji zachorowało wśród objawów zapalenia spojówek i rogówki 5, podczas gdy w analogicznej grupie kontrolnej 26 zwierząt. Dalsze badania po rozszerzeniu i uzupełnieniu doświadczeń, pozwolą na ocenę wartości immunogennej szczepionki i jej praktycznego znaczenia w zwalczaniu *keratoconjunctivitis* bydła.

Wnioski

1. Izolacja wirusa IBR z zakaźnego *keratoconjunctivitis* bydła stanowi dowód jego występowania u bydła w Polsce.

2. Izolowany wirus IBR powodował w warunkach doświadczenia u cieląt silne objawy kliniczne zapalenia spojówek.

3. Wstępne próby immunizacji cieląt inaktywowaną szczepionką, przygotowaną na HKNC z izolowanego szczepu wirusa IBR wskazują na jej dużą skuteczność w profilaktyce IBR, lecz wymagają dalszych doświadczeń.

Piśmiennictwo

1. Baptista P. J. H. P.: Br. Vet. J. 135, 225, 1979.
2. Bochdalek R., Madej J. A., Pawlik R., Podlewska D., Sobiech T.: Medycyna Wet. 31, 70, 1975.
3. Buczek J.: Medycyna Wet. 25, 577, 1969.
4. Buczek J., Wrzolek-Lobocka G.: Medycyna Wet. 33, 741, 1977.

5. Kita J., Furgin Cz., Woyciechowska St., Krzywoszyńska J., Zieliński J.: Medycyna Wet. 31, 593, 1975.
6. Kucharski B., Dąbrowski T., Patyra W., Staniewska R.: Medycyna Wet. 29, 541, 1973.
7. Kucharski B.: Medycyna Wet. 30, 591, 1974.
8. Piórkowski J., Wawrzkiwicz J.: Medycyna Wet. 34, 454, 1978.
9. Wawrzkiwicz J., Lewandowski M., Mucha M., Majer B.: Medycyna Wet. 26, 392, 1973.
10. Wielcox G. E.: Vet. Bull. 38, 394, 1968.
11. Zembrzycka H., Zakiewicz M., Szykiewicz Z.: Medycyna Wet. 33, 84, 1977.

Adres autora: prof. dr Jan Buczek, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin.

Бучек Я., Рокош Б., Вжолек-Лобочкая Г. — **Изоляция вирусов из случаев кератоконъюнктивита крупного рогатого скота.**

Из 53 мазков из больных глаз среди симптомов инфекционного кератоконъюнктивита крупного рогатого скота изолировали на культуре почек телят 4 штамма вирусов. Из изолированных возбудителей 3 классифицировали как вируса PI-3, 1 как вирус IBR. В связи с проводимыми в исследуемом объекте профилактических вакцинаций, выполняемых внутринозовым и аэрозольным методом аттенуированной вакциной PI-3, не можно исключить, что изолированные вирусы PI-3 не являются прививочными штаммами, хотя от момента иммунизации протекло ок. 4 недель. Изоляция вируса IBR не возбуждает подобных оговорок. В объекте никогда не применяли вакцинаций вирусом IBR. Изолированный вирус IBR оказался сильно болезнетворным для телят. В условиях опыта после интраконъюнктивальной инфекции он вызвал у 5 среди 6 инфицированных телят сильные клинические симптомы конъюнктивита. Попытки иммунизации животных при помощи изготовленной из изолированного штамма IBR инактивированной вакцины во вступительных опытах произошли успешно и будут продолжаться.

Buczek J., Rokosz B., Wrzolek-Lobocka G. — **Isolation of viruses from cases of bovine keratoconjunctivitis.**

Of 53 samples taken from cattle with keratoconjunctivitis four strains were isolated on calf kidney cells. Out of the strains isolated, 3 were determined as PI-3 and one as IBR. Taking into account the fact that on this farm prophylactic vaccinations had been carried out 4 weeks earlier with an attenuated strain of PI-3, it was not possible to exclude that the strains isolated were vaccinal strains. Instead that possibility did not concern IBR virus. It appeared to be very pathogenic for calves. Under experimental conditions following intraconjunctival infection it caused with 5 of 6 calves infected heavy clinical conjunctivitis. Attempts of immunisation by use of a vaccine based on an inactivated IBR strain proved to be encouraging and will be continued.

ADAMS L. G., CARRIER D. E., WILLIAMS J. D.: **Badania nad toksycznością dwupropionianu imidokarbu dla bydła. (A study of the toxicity of imidocarb dipropionate in cattle).** Aust. vet. J. 28, 172–177, 1980 (2).

Imidokarb jest stosowany u bydła w leczeniu i zapobieganiu anaplazmozie 2–4 mg/kg i babeszjozie (1–2 mg/kg). Jednakże ze względu na działania uboczne wprowadzono do praktyki dwupropionian imidokarbu. Badania przeprowadzone na cielętach którym podawano dwupropionian imidokarbu w dwóch iniekcjach w odstępie 14 dni w dawce 5, 10 i 20 mg/kg wagi ciała wykazały, że w zależności od wielkości dawki

występują przejściowe objawy zatrucia manifestujące się nadmiernym ślinieniem, surowiczym wyciekami z nosa, biegunką i dusznością. Przy wysokich dawkach wzrastał wyraźnie poziom azotu mocznikowego we krwi oraz aktywność GOT w surowicy. Zwierzęta padały po 11 dniach po iniekcji 20 mg/kg. Badanie sekcyjne padłych cieląt wykazało przekrwienie nerek, obrzęk wątroby, obrzęk i przekrwienie płuc, nagromadzenie płynu w jamie opłucnowej i otrzewnowej oraz w worku osierdziowym. Zmiany w nerkach były związane z ostrą martwicą kanalików nerkowych. Ponadto przy dawce 20 mg/kg w miejscu iniekcji występował obrzęk i martwica tkanek.

G.