

ZBIGNIEW BACZYŃSKI

Adenomatoza płuc owiec — gruczolakowatość

Zakład Wirusologii Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 55, 24-100 Puławy

Gruczolakowatość płuc — *adenomatosis pulmonum* — jest zakaźnym, enzootycznym schorzeniem płuc o przewlekłym przebiegu, cechującym się powstawaniem w płucach pierwotnych, licznych guzków nowotworowych o charakterze gruczolaków. Choroba przebiega w stadzie powoli, wśród objawów nasilającej się duszności i kaszlu oraz postępującego wychudzenia i najczęściej kończy się zejściem śmiertelnym z powodu ogólnego wyniszczenia zwierzęcia.

Choroba stwierdzona została po raz pierwszy w Afryce Południowej w 1825 r. (11, 16) i opisana pod nazwą „jaagsiekte”, tzn. choroba poganiania. Objawy występują bowiem podczas przepędzania zwierząt. W latach następnych XIX stulecia pojawiła się ona w Anglii, Niemczech i Francji, a w 1930 r. w Islandii (11), gdzie zawleczona została za pośrednictwem owiec importowanych z Niemiec. Od tego czasu chorobę stwierdzano w ponad 20 krajach wszystkich kontynentów. Masowe zachorowania owiec w Islandii tłumaczyć można dużą wrażliwością miejscowych zwierząt na zakażenie oraz dziewiczym charakterem terenu, w stosunku do czynnika infekcyjnego, w porównaniu do krajów europejskich, gdzie zarazek tej choroby zadomowił się niejako i wykazuje subkliniczny, względnie enzootyczny charakter zakażenia, o powolnym i ograniczonym zakresie.

W Polsce choroba ta opisana została po raz pierwszy przez Kopczewskiego i wsp. w 1979 r. (7) w stadzie owiec na terenie woj. gdańskiego. Badania w kierunku ustalenia ewentualnej roli chorobotwórczej wirusów pneumotropowych bydła w przebiegu enzootycznego zapalenia płuc owiec, zapoczątkowane przez Baczyńskiego i wsp. (1), nie wykazały ich udziału jako głównego czynnika etiologicznego. W związku z powyższym podjęte zostały dalsze badania o charakterze przeglądowym, w celu ustalenia udziału pneumotropowych wirusów powolnych owiec w obserwowanych u tych zwierząt zachorowaniach.

Czynnikiem etiologicznym choroby jest wirus wykazujący wszystkie cechy morfologiczne i fizyko-chemiczne charakterystyczne dla herpeswirusów, na co zwrócił już uwagę Mitchell w 1915 r. (11). Czynniki wtórnymi, wikłającymi przebieg zakażenia, może być rozbaczycza płuc oraz mikoplazmy, chlamydie i gruźlica, jak również nieodpowiednie warunki środowiskowe. Etiologię wirusową choroby potwierdził Dungal w 1946 r. (4) oraz Sigurdsson w 1958 r. (14) na drodze eksperymentalnego, dotchawicowego zakażenia owiec prze-

sączem tkanki płucnej chorych zwierząt. Wirus adenomatozy wykazuje konfigurację heksagonalną, o wymiarach 95–115 nm; jest on wrażliwy na eter oraz pH=3,0. W temperaturze –18°C zachowuje żywotność w ciągu 18–52 miesięcy (14).

Źródłem zakażenia jest wydzielina dróg oddechowych. Do zakażenia dochodzi drogą aerogenną przez kontakt zwierząt, jak również za pośrednictwem śliny lub mleka. Na zakażenie naturalne wrażliwe są owce w różnym wieku, najczęściej jednak chorują starsze w wieku 3–4 lat; sporadycznie chorują również jagnięta, które mogą być nosicielami lub siewcami wirusa. W warunkach naturalnych uznaje się kozy za potencjalny rezerwuuar wirusa w środowisku. Świadczyć mogą o tym pozytywne wyniki zakażenia eksperymentalnego oraz sporadyczne zachorowania tych zwierząt w Indiach, Peru i ZSRR w latach 60-tych (15). Na eksperymentalne zakażenie wrażliwe są króliki, świnki morskie i myszy, u których po podskórnym lub dotchawicowym wprowadzeniu materiału zakaźnego pojawiają się w węzłach chłonnych cysty, względnie brodawkowate twory na błonie śluzowej oskrzeli (11). Z epizootologicznego punktu widzenia zwierzęta te jednak nie odgrywają żadnej roli w rozprzestrzenianiu zarazka w środowisku.

Choroba ma przebieg powolny, bezobjawowy i często występuje w stanie nierozpoznanym. Do zachorowania w stadzie dochodzi najczęściej przez wprowadzenie do zdrowych stad zwierząt chorych względnie zakażonych subklinicznie. Proces chorobowy zaliczany jest do infekcji wywoływanych przez wirusy powolne, na skutek długiego okresu inkubacji choroby, względnie powolnego, utajonego przebiegu zakażenia. Proces chorobowy rozwija się długo i obejmuje coraz większą liczbę zwierząt w stadzie. Choroba przebiega wśród objawów kaszlu, duszności i ogólnego wychudzenia i osłabienia, pomimo właściwego żywienia i odpowiedniej pielęgnacji (3, 11, 15, 16). Objawy ze strony układu oddechowego stopniowo nasilają się, szczególnie zaś w okresie od późnej jesieni do wczesnej wiosny, w chłodnej i wilgotnej porze roku, przy zmianie pogody, jak również w środowisku zanieczyszczonym dużą ilością kurzu i pyłu, które oddziałują drażniąco na błony śluzowe dróg oddechowych. Czynnikiem sprzyjającym jest stacjonarny chów alkierzowy owiec, przebywających w nieodpowiednich warunkach klimatycznych. Predysponująco działa również postawa stojąca zwierząt, szczególnie w warunkach ich stłoczenia.

Długotrwałe, ponad miesięczne przebywanie owiec w owczarniach w okresie zimowym stwarza sprzyjające warunki do rozwijania i nasilania się choroby oraz jej rozprzestrzeniania w stadzie. W Polsce choroba szerzy się najczęściej w regionie nadmorskim i to głównie u owiec rasy długowłnistej (7).

Schorzenie przebiegać może w formie infekcji mieszanej, z udziałem flory bakteryjnej, wirusów pneumotropowych lub robaczyicy płuc, co prowadzić może do zapalenia płuc o ostrym, gorączkowym przebiegu. Istnieje również możliwość infekcji mieszanej z udziałem wirusa maedi-visna i to zarówno w stadzie, jak i u poszczególnych zwierząt.

Interesujące jest, że w Australii, gdzie populacja owiec liczy około 180 milionów zwierząt, choroba ta nie występuje pomimo, iż kraj ten importuje również owce z terenów dotkniętych tą enzootią (11, 16). Wiąże się to prawdopodobnie z dłuższym przebywaniem zwierząt na wolnym powietrzu oraz z systematycznie wykonywaną, w oparciu o badania kompleksowe, eliminacją zwierząt podejrzanych ze stada.

Okres inkubacji choroby trwa długo, od 4 do 12 miesięcy, a nawet 2 do 3 lat, co sprzyja niedostrzegalnemu rozprzestrzenianiu się choroby w stadzie. Objawy kliniczne są podobne do obserwowanych przy chorobie maedi, natomiast zmiany w płucach są odmienne. Podstawowym objawem chorobowym jest długotrwała duszność przy zwiększonej ilości oddechów, połączona, w miarę jak postępuje proces chorobowy, z suchym początkowo kaszlem i wysiękiem surowiczo-śluzowym z nozdrzy oraz powoli postępującym wychudzeniem i osłabieniem zwierzęcia (2, 3, 11). W wysięku stwierdza się dużą ilość komórek nabłonkowych. Owce przybierają charakterystyczną postawę z szeroko rozstawionymi przednimi kończynami i opuszczoną głową. Choroba przebiega na ogół bezgorączkowo, przy zachowanym lub zmniejszonym apetycie. W późniejszym okresie trwania choroby pojawia się wilgotny kaszel w następstwie tworzenia się w oskrzelach dużej ilości wydzieliny, której obecność w nosie powodować może sapiący oddech; nozdrza są niekiedy rozszerzone; zwierzęta oddychają przez otwartą jamę gębową. Przy osłuchiwaniu płuc stwierdza się wilgotny szmer. Wysięk z nozdrzy, kaszel oraz duszność można sprowokować przez opuszczenie głowy, lub przez uniesienie tylnych kończyn, albo po przepędzeniu zwierzęcia. Choroba przebiega wybitnie przewlekłe; nagłe padnięcia są rzadko obserwowane. Najczęściej występują one w wilgotne i gorące dni, na skutek zaburzeń w krążeniu (2, 11, 16). Zmiany kliniczne w stadzie dostrzegalne są niekiedy dopiero przy szczegółowym, indywidualnym przeglądzie zwierząt, szczególnie po wysiłku fizycznym. W miarę zaawansowania procesu chorobowego zwierzę-

ta chudną, co doprowadza do całkowitego charłactwa i śmierci. Przeważnie jednak owce chore kierowane są wcześniej do uboju z konieczności. Zachorowania oraz straty wynikłe z padnięcia zwierząt chorych są zwykle niskie co powoduje, że hodowcy nie poświęcają temu schorzeniu szczególnej uwagi (11, 16). Śmiertelność waha się, łącznie z ubojami z konieczności, od 2 do 5% w skali roku, przy czym, w zależności od warunków środowiskowych i klimatycznych, zwiększa się ona stopniowo w latach następnych. Choroba obejmuje z czasem całe pogłowie zwierząt, jeżeli wcześniej nie przeprowadzi się systematycznej selekcji i eliminacji zwierząt chorych ze stada. Masowych, wyniszczających enzootii, jakie miały miejsce przed 35 laty w Islandii lub w Afryce, dziś już nie stwierdza się (15, 16).

Z fizjopatologicznego punktu widzenia przewlekły stan śródmiąższowego zapalenia płuc względnie oskrzeli powoduje, na tle mechanicznego drażnienia, zmiany metaplastyczne oraz transformację komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych i oskrzeli (2, 3, 11, 16). Przewlekłe bowiem drażnienie nabłonków przez czynnik chorobotwórczy prowadzi do śródmiąższowego zapalenia tkanki płucnej, zgrubienia ścian pęcherzyków płucnych, nacieczenia komórkowego i tworzenia się płynu wysiękowego. W następstwie tego dochodzi do regeneracji, a zarazem i transformacji komórek nabłonkowych w komórki o odmiennym kształcie kubicznym lub cylindrycznym oraz ich proliferacji. Proces ten stopniowo rozszerza się drogą endobronchialną na sąsiednie pęcherzyki i oskrzeliki. W takim rozumieniu gruczolakowatość płuc jest procesem regeneracyjno-metaplastycznym w obrębie komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych lub oskrzelików, wywodzącym się z błon śluzowych tych narządów (2, 11, 16). Dotychczas panują rozbieżne poglądy odnośnie tego, czy gruczolakowatość płuc jest pierwotnym procesem nowotworowym, w wyniku działania wirusa, za czym przemawiać zdają się nierzadko spotykane przerzuty w okolicznych węzłach chłonnych, czy też jest ona wynikiem powstałego pod wpływem wirusa procesu regeneracyjno-metaplastycznego w obrębie pęcherzyków płucnych i oskrzeli na tle przewlekłego, śródmiąższowego zapalenia płuc, w czasie trwania którego nabłonek przybiera z czasem cechy nowotworowe (3, 11, 16).

Rokowanie jest zawsze niepomyślne. Nasilenie zmian chorobowych zależne jest od wielkości dawki infekcyjnej wirusa oraz od wrażliwości osobniczej zwierzęcia.

W obrazie anatomo-patologicznym najbardziej charakterystyczne jest silne wychudzenie zwierzęcia, niekiedy zażółcenie zwłok oraz guzy w mięszu tkanki płucnej różnych rozmiarów (2, 3, 6, 11, 16). Guzki okrągłe lub owalne — wielkości od ziarna prosa lub orzecha

włoskiego do wielkości jaja kurzego, powstają w wyniku rozrostu nabłonków pęcherzyków płucnych i oskrzeli, wypełniających całkowicie ich światło — zlokalizowane są nieregularnie w całym miąższu płucnym. Mniejsze guzki zlewają się ze sobą, tworząc duże guzy o nieregularnych kształtach; tkanka płucna śródmiąższowa ulega, w wyniku nieswoistych procesów zapalnych, silnemu zwłóknieniu, przybiera konsystencję twardą, słoninową lub mięsistą, niekiedy zaś kruchą. W końcowym stadium choroby całe płaty płuc ulegają zniszczeniu, przybierając guzowaty wygląd, stają się bezpowietrzne zwiększają swój ciężar od 2,5 do 3,0 kg w stosunku do płuc normalnych wagi 300 do 500 g (11, 16). Należy jednak mieć na uwadze, że bardzo znaczne powiększenie wagi płuc przy braku zmian o charakterze gruczolakowatym, wskazywać może raczej na chorobę maedi-visna. Barwa płuc jest zmieniona w różnych partiach od szaro-białej lub żółto-białej do bladoczerwonej lub purpurowej. Powierzchnia płuc na przekroju jest wilgotna, ziarnista z widocznymi niekiedy guzkami nekrotycznymi, chrzęstzącymi przy nakrojeniu lub ropnymi, co utrudniać może rozpoznanie właściwych gruczolaków. W oskrzelach i tchawicy jest duża ilość pienistego wysięku śluzowego, zawierającego złuszczone nabłonki, leukocyty i makrofagi. Opłucna pokryta jest nąlotem włóknika, przybierającego wygląd błony łącznotkankowej. Przerzuty widoczne mogą być w węzłach chłonnych śródpiersiowych, krezkowych, na otrzewnej, krezce oraz w nerkach, wątrobie, śledzionie i sercu, jak również i w mięśniach szkieletowych (11). W niektórych przypadkach stwierdza się zwyrodnienie wątroby, powiększenie mięśnia sercowego oraz powiększenie i przekrwienie nerek. Węzły chłonne są powiększone, galaretowato nacieczone, niekiedy zropiałe, konsystencji guzowatej. W nielicznych przypadkach stwierdza się stan zapalny płuc i opłucnej z martwicą lub ropniami, szczególnie w wyniku wtórnej infekcji bakteryjnej. Zaawansowany proces zapalny ze zwłóknieniem tkanki powoduje prawie zupełną przebudowę miąższu płucnego, co utrudnia rozpoznanie makroskopowe i dlatego materiał do badań pobierać się winno z brzeżnych partii zaistniałych zmian.

Badaniem histopatologicznym (2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 16) stwierdza się proliferację nabłonka pęcherzyków płucnych i oskrzelików o charakterze gruczolakowatym lub brodawkowatym, wypełniającą światło przewodów. Przegrody międzypęcherzykowe stają się zgrubiałe na skutek rozrostu tkanki podścieliskowej między pęcherzykami. Dookoła guzków widoczny jest naciek zapalny ze strony tkanki śródmiąższowej, jak również rozstrzeń pęcherzyków płucnych, przy czym komórki ich ulegają transformacji. W wyniku proliferacji komórek światło pęcherzyków i oskrzelików wypełnia

się zwartą masą komórek, co wytwarza obraz mnogich guzków gruczolakowatych.

Rozpoznawanie gruczolakowatości płuc opierać się winno głównie o wyniki badań kliniczno-epizootycznych oraz anatomohistopatologicznych. Chorobę w stadzie można najczęściej rozpoznać na podstawie obserwacji zwierząt w ruchu, tj. w czasie wypędu owiec na pastwisko lub ich powrotu do owczarni. Zwiększona liczba oddechów do 30—35 na minutę jest poważnym wskaźnikiem diagnostycznym. Czynnikiem prognostycznym i informującym zarazem o stopniu nasilenia się enzootii w stadzie może być również wskaźnik zachorowań i upadków, względnie eliminacji owiec. Określany winien on być okresowo w skali roku, w ciągu całego okresu przebywania owiec w gospodarstwie, w równoczesnej korelacji ze wskaźnikami ekonomicznymi kosztów produkcji hodowlanej.

Uzupełniającą metodą wczesnego rozpoznawania choroby może być badanie cytologiczne wydzieliny dróg oddechowych, w kierunku wykrycia skupisk komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych lub oskrzeli oraz stwierdzenie ciałek wtretowych w cytoplazmie komórek płucnych (9). Ponadto rozpoznanie zakażenia, szczególnie z zaawansowanym stadium choroby może być dokonane przy użyciu testu jodowego, wykrywającego zjawisko hipergamaglobulinemii (10). Aczkolwiek test ten nie jest swoisty dla zakażenia wirusem adenomatozy, niemniej jednak jako wskaźnik zaawansowanej choroby może stanowić kryterium diagnostyczne, pomocnicze przy selekcji i eliminacji zwierząt ze stada (10). Badaniem uzupełniającym może być również rentgenografia płuc oraz badanie elektronomikroskopowe w kierunku stwierdzenia zmian w ultrastrukturze komórek tkanki płucnej oraz ewentualnie cząstek wirusa gruczolakowatości (8, 17).

Próby izolacji i identyfikacji wirusa są stosunkowo trudne, czasochłonne, polegają one na stwierdzeniu zmian cytopatycznych w hodowli komórek splotu kosmówkowego mózgu lub płuc zdrowych owiec, wykrywalnych dopiero w toku wielokrotnych pasażi. W związku z tym metoda wirusologiczna nie znalazła dotychczas powszechnego zastosowania w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej.

W diagnostyce różnicowej uwzględnić należy zapalenie płuc tła bakteryjnego, chorobę maedi-visna, gruźlicę, a przede wszystkim robaczycę płuc. W przypadku adenomatozy charakterystyczne jest bujanie nowotworowe komórek nabłonkowych oraz różnej wielkości guzki w miąższu płucnym (5, 6, 11, 12, 13).

Leczenia skutecznego nie ma i nie znajduje ono sensownego uzasadnienia w stosunku do zwierząt z rozpoznaną chorobą. W przypadku stwierdzenia zarobaczenia owiec, należy je odrobaczyć (3). W celu maksymalnego wykorzystania zwierząt chorych przed ich likwidacją, ewentualne zastosowanie znaleźć mogą prepa-

raty o działaniu bodźcowym względnie ogólnie wzmacniające, jak również antybiotyki o szerokim spektrum działania.

W związku z tym, że podejmowane leczenie może być niebezpieczne, ze względu na utrzymanie w stadzie zwierząt chorych — rozsadaników infekcji oraz nierentownych dla produkcji — jedynym środkiem zaradczym po rozpoznaniu choroby jest jej zwalczanie (2, 3, 11, 16). Polega ono na okresowej selekcji kliniczno-diagnostycznej i możliwie wczesnej eliminacji zwierząt chorych i podejrzanych o chorobę, stanowiącej podstawowy element uzdrawiania stada.

Selekcji dokonuje się okresowo w odstępach 4—8 tygodni, w oparciu o badania kompleksowe, kliniczne oraz ocenę sytuacji enzootycznej w stadzie, a także obraz anatomo- i histopatologiczny zwierząt padłych, względnie poddanych ubojowi. W pierwszej kolejności należy usunąć z hodowli owce wychudzone, fizycznie słabe oraz te, u których obserwuje się utrudnione poruszanie, w drugim zaś etapie zwierzęta z nasilającą się dusznością, wypływem z nozdrzy oraz permanentnym i napadowym kaszlem. W ostatniej kolejności eliminacji podlegać winny owce, które dopiero w wyniku badania indywidualnego wykazały, po zastosowaniu zabiegów prowokacyjnych, zaburzenia ze strony układu oddechowego (11, 16). Pomocniczym wskaźnikiem oceny stadium zakażenia owiec, uprawniającym do podjęcia omawianego postępowania, okazać się mogą diagnostyczne badania uzupełniające (9, 10). Eliminacja zwierząt dotyczy owiec starych, w tym przede wszystkim starych tryków i zmierzać winna do wymiany obsady zwierząt starych na młode i zdrowe, przy równoczesnym skróceniu okresu ich eksploatacji. W regionach zagrożonych obowiązywać winna, przy kompletowaniu nowych stad, zasada chowu zwierząt młodych o niedużej liczebności pogłowia, ze stosunkowo krótkim okresem eksploatacji, przy systematycznej równocześnie likwidacji zwierząt starych, zwłaszcza owiec długowieństych.

Zwierzęta chore względnie podejrzane winny być odizolowane i likwidowane w drodze uboju z konieczności w rzeźni sanitarnej. Tusze mięsne owiec, ze względu na silne wychudzenie, oceniane winny być zgodnie z wymogami sanitarnymi. Dotychczasowe obserwacje wykazały, że padnięcia owiec w granicach 10 do 20% są już niekorzystnym wskaźnikiem prognostycznym, zarówno w aspekcie profilaktycznym, jak i ekonomicznym. W przypadku zatem, gdy choroba utrzymuje się nadal w stadzie i obejmuje coraz większą liczbę zwierząt, należy całe stado zlikwidować na drodze uboju sanitarnego. Dalsze bowiem utrzymywanie zwierząt w stadzie pomnaża tylko niepotrzebnie straty ekonomiczne, wynikające z nierentowności dalszej produkcji hodowlanej. Po

zlikwidowaniu zwierząt, jak i w czasie całego okresu zwalczania enzootii w stadzie, obowiązywać winny ogólne zasady postępowania sanitarno-weterynaryjnego. Środkiem odkażającym, najbardziej skutecznym jest 3% roztwór formaliny. Po likwidacji stada obowiązuje 6 miesięczny okres niezasiedlania pomieszczeń. Z powyższego wynika, że proces uzdrawiania stada może przynieść pożądane efekty, jeżeli schorzenie dotyczy niedużej liczby zwierząt w stadzie oraz w warunkach dostatecznie wczesnego jego rozpoznania.

W zakresie postępowania zapobiegawczego wskazane jest przede wszystkim unikanie kontaktu zwierząt zdrowych ze zwierzętami chorymi względnie podejrzanymi o zakażenie, jak również unikanie wspólnego wodopoju, wypasu, pomieszczeń i wybiegów. Zwierzęta nowo zakupione pochodzić powinny z terenu nie zapychającego oraz ze stad wolnych od tej choroby. Zasiedlanie tych zwierząt winno odbywać się na zasadzie kwarantanny. Wywiad epizootyczny w środowisku skąd zwierzęta pochodziły, stanowi ważny element zwalczania tej choroby. Obrót zwierząt winien być ściśle kontrolowany.

Niezależnie od tego, w skali poszczególnych makroregionów kraju, wykonywane winny być przeglądowe badania poubojowe zwierząt w zakładach mięsnych, w celu ustalenia stopnia rozprzestrzenienia się adenomatozy w terenie. Badania takie mogłyby się przyczynić do wczesnego wykrycia tej choroby w środowisku oraz podjęcia odpowiedniego postępowania zapobiegawczego w obrocie zwierzętami z regionu zagrożonego względnie zapychającego.

Uodpornianie czynne zwierząt nie znalazło jak dotychczas powszechnego zastosowania, ze względu na duże trudności związane z izolacją i identyfikacją wirusa oraz małą skutecznością ochronną szczepionki. W warunkach doświadczalnych dobre wyniki uzyskano po dwukrotnym w ciągu roku podaniu autoszczepionki zwierzętom zdrowym (3, 11). W stadach tych uprzednio eliminowano owce chore i podejrzane. Szczepionki te wykazały działanie ochronne tylko w tych stadach, z których izolowano użyty do ich produkcji wirus. W świetle współczesnych poglądów skuteczność szczepionki jest wątpliwa, a ocena jej wartości ochronnej nie jest jednolita.

Adenomatoza płuc owiec jest w warunkach krajowych schorzeniem spotykanym w fermach hodowlanych, zlokalizowanych głównie na terenach nadmorskich. W związku z tym skracanie okresu eksploatacji zwierząt, eliminacja i likwidacja zwierząt słabych oraz uzupełnianie stada zwierzętami młodymi, nieduża liczebność pogłowia, stają się aktualne podstawowym warunkiem zapobiegania i zwalczania tego schorzenia.

Piśmiennictwo

1. Baczyński Z., Dzierżawski A., Skulmowska-Kryszkowska D.: Bull. vet. Inst., Puławy 25, 24, 1982.
2. Behrens H.: Lehrbuch der Schafkrankheiten. P. Parey Verlag, Berlin 1971.
3. Cakala S.: Choroby owiec. PWRiL, 1981.
4. Dungal N.: Am. J. Path. 22, 737, 1946.
5. Geisel O.: Zentbl. VetMed. B. 22, 535, 1975.
6. Jacob W., Krause H.: Mh. Vet.-Med. 20, 217, 1965.
7. Kopczewski A., Twardowski H., Wardziński S., Chyliński G.: Medycyna Wet. 35, 347, 1979.
8. Mackay J. M. K.: J. comp. Path. 79, 141, 1969.
9. Nobel T. A., Neumann F., Klopfer U.: Zentbl. VetMed. B. 17, 958, 1970.
10. Nobel T. A., Klopfer U., Neumann F., Trainin Z.: Zentbl. VetMed. B. 18, 9, 1971.
11. Röhrer H.: Handbuch der Viruskrankheiten bei Tieren. G. Fischer Verlag, Jena, 1978, VI/2.
12. Sedlmeyer H., Schiefer B., Jacob H.: Dt. tierärztl. Wschr. 73, 422, 1966.
13. Schulz L. Cl., Weiland F.: Zentbl. VetMed. B. 15, 132, 1968.
14. Sigurdsson B.: Arch. ges. Virusforsch. 8, 51, 1958.
15. Truszczyński M.: Medycyna Wet. 35, 257, 1979.
16. Wandera J. G.: Advanc. vet. Sci. 15, 251, 1971.
17. Wandera J. G., Krauss H.: Zentbl. VetMed. A. 18, 325, 1971.

Adres autora: prof. dr Zbigniew Baczyński, ul. Kraszewskiego 10, 24-100 Puławy

TOMASZ PERYT

Zastosowanie odczynu immunofluorescencji w rutynowej diagnostyce choroby Aujeszky

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Lechicka 21, 02-156 Warszawa

Dotychczasowa diagnostyka choroby Aujeszky (ch. A.), zgodnie z instrukcją Ministerstwa Rolnictwa (3), opiera się głównie na wynikach próby biologicznej na królikach w wieku do 4 miesięcy lub młodych kotach. W niektórych przypadkach, głównie przy podejrzeniu ch. A. u świń, wspomniana instrukcja przewiduje jednoczesną izolację wirusa na hodowli komórek nerki świni i komórek zarodka kurzego. Wirus ch. A. jest bowiem, jak dotychczas, jedynym wirusem występującym u świń, który wywołuje zmiany cytopatyczne w obu wymienionych hodowlach komórkowych. Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że próbę biologiczną można przeprowadzić również na białych myszkach (2, 6), a w przypadku izolacji wirusa w hodowli komórkowej, jego identyfikację — techniką przeciwciał znakowanych (1, 5, 6, 7). Powszechna dostępność przeciwciał znakowanych do wykrywania wirusa ch. A. pod nazwą „Gamakon AV” pozwala, jak się wydaje, na szersze zastosowanie tej metody w rutynowych badaniach laboratoryjnych.

Celem pracy było określenie przydatności odczynu immunofluorescencji bezpośredniej w diagnostyce ch. A. u zakażonych materiałem zawierającym wirus białych myszek lub w hodowli komórkowej.

Materiał i metody

Materiał stanowiły narządy wewnętrzne (mózgi, śledziony, płuca) od 26 zwierząt (20 lisów, 4 świń, kuny i psa) nadesłane do badań w kierunku ch. A. z 18 gospodarstw w latach 1979—1982. Próbę biologiczną przeprowadzano na królikach w wieku do 4 miesięcy i na białych myszkach o masie ok. 12 g (6 myszek na jedną próbę).

Zakażenie. Z materiału nadesłanego do badania przygotowywano 20% rozcień w buforze fosforanowym o pH 7,5 z dodatkiem 1000 j. penicyliny i 1000 mg. streptomycyny na 1 ml. Rozcień pozostawiano na 30 min. w temperaturze pokojowej, po czym wiorowano go przy 2000 obr./min. Płynem nad osadu zakażano jednocześnie: królika (1 ml. domięśniowo), 6 myszek (po 0,03 ml. domięśniowo) oraz hodowlę pierwotną komórek zarodka kury (0,2 ml. na próbkę). W kontroli w miejsce supernatantu stosowano bufor fosforanowy z antybiotykami.

Preparaty immunofluorescencyjne. Do badania immunofluorescencyjnego przygotowano: a) preparaty odciskowe z mózgów, rdzeni kręgowych, płuc i śledzion od zwierząt nadesłanych do badania, b) preparaty odciskowe z powierzchni kory mózgowej i z przekroju półkul mózgowych myszek padłych oraz uspijonych w 24, 48, 72 godziny po zakażeniu c) preparaty na szkiełkach z probówek Leightona z komórkami w 18 i 24 godziny po zakażeniu, dwukrotnie płukany w buforze fosforanowym. Wszystkie preparaty po dokładnym wysuszeniu utrwalano 15 min. w acetonie w temp. 4°C. Nakładano konjugat „Gamakon AV” (Bioveta, CSRS) w odpowiednim rozcieńczeniu i inkubowano w komorze wilgotnej w 37°C. Po 30 min. preparaty płukano dwukrotnie po 10 min. w buforze fosforanowym o pH 7,3. Po dokładnym wysuszeniu preparaty zatapiano w buforze

Tab. 1. Wykrywalność wirusa ch.A. w materiale biologicznym w zależności od zastosowanej metody (liczba — %)

Zwierzę	n (szt.)	IF z mat. terenowego	Królik pr. biol.	Mysz		n (szt.)	Hodowla komórkowa	
				pr. biol.	IF		CPE	IF
Lis	20	0	10 (50%)	10 (50%)	10 (50%)	16 a)	7 (44%)	7 (44%)
Świnia	4	0	1 (25%)	1 (25%)	1 (25%)	4	1 (25%)	1 (25%)
Kuna	1	0	0	0	0	1	0	0
Pies	1	0	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	1	1 (100%)	1 (100%)
Razem	26	0	12 (46%)	12 (46%)	12 (46%)	21	9 (43%)	9 (43%)

Objaśnienia: IF — immunofluorescencja bezpośrednia, CPE — efekt cytopatyczny, (0) — wynik ujemny, a) — czterech lisów (trzech dodatnich i jednego ujemnego w próbie biologicznej) nie badano w hodowli komórkowej.