

WITOLD GOLNIK, JANUSZ PAWĘSKA, WIESŁAW DZIK

Badania dynamiki zakażeń wirusem zapalenia tętnic koni w stadninie koni

Katedra Mikrobiologii Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Summary

Dynamics of infections with equine arteritis virus (EAV) in the stud of horses being under the control for two years

The examinations comprised all the mares and stallions of the stud K in the period from January 1989 to February 1991. Mares aged 6—12 months to 12 years were divided into 13 groups (from A to M). Serological tests were performed three times (I, II, III) at intervals of 1 year. The percentage of mares with neutralizing antibodies against EAV was 53.3, 67.5 and 48.5 (consecutive years). The titers of the antibodies ranged from 4 to ≥ 512 . In the course of examinations the titers were 64—128, 32—64 and 16—32. In 24 of 27 fresh cases of infections between the first and second examination the appearance of specific antibodies was observed at week 3 after covering by a stallion with antibodies against EAV. In the same period there was noticed also a significant per cent of infections in 6—12 old mares of the group A (50%) and L (27.7%) being in contact with the mares covered by an infected stallion. After elimination of that stallion from the stud the number of new infections decreased markedly and only two cases were found in that time (between the second and third examination). The findings indicate that the primary transmission of EAV in the stud K took place through the genital tract due to infection by the infected stallion, and the secondary — by the respiratory tract.

Choroba o obrazie klinicznym sugerującym wirusowe zapalenie tętnic koni (Equine Viral Arteritis — EVA) znana była od dawna pod różnymi nazwami jako: Rotlaufseuche, Pferdestaupe, epizootic cellulitis, pink eye, Fievre typhoide lub influenza (1, 4, 7, 27). Rozpoznanie EVA jako specyficznej choroby koni oraz jej odróżnienie od zakażeń herpeswirusem koni typ 1 i 4 oraz wirusem grypy stało się możliwe dopiero po wyisobnieniu swoistego czynnika etiologicznego choroby — wirusa zapalenia tętnic koni (Equine Arteritis Virus — EAV). Wirus ten wyizolowano po raz pierwszy z tkanek płodu poronionego w czasie epizootii EVA w jednej ze stadnin koni rasowych okręgu Bucyrus, stan Ohio, w Stanach Zjednoczonych A. P. w 1953 r. (7). W Europie izolowano go początkowo w Szwajcarii (4) i Austrii (18), a następnie w Polsce w 1978 r. (10). Ze względu na właściwości morfologiczne, biochemiczne oraz biofizyczne EAV zaliczono do rodziny *Togaviridae* (2, 17, 37, 38), a szczególny mechanizm ekspresji genetycznej wirusa stał się podstawą do utworzenia dlań osobnego rodzaju *Arterivirus* (39). Zakażenia EAV występują tylko u koniowatych (7). Badania szczepów amerykańskich, europejskich i innych wskazują na istnienie jednego serotypu wirusa (23, 29). Różnorodność form klinicznych EVA obserwowanych w warunkach naturalnych sugeruje jednak występowanie szczepów wirusa o różnej patogenności (3, 25). W klasycznej, ostrej formie choroby, po okresie inkubacji wynoszącym 3—10 dni, najczęściej notowanymi objawami są: gorączka trwająca 5—9 dni, spadek apetytu, depresja, ogólne osłabienie, duszność, łzotok, zapalenie spojówek z silnym różowo-czerwonym zabarwieniem błon śluzowych oka

(„pink eye”), obrzęk powiek, surowiczy wypływ z jam nosowych, biegunka, zaparcia, obrzęk kończyn, podbrzusza oraz worka mosznowego i napletka (4, 19). U klaczy ciężarnych pod koniec okresu gorączki lub w stadium rekonwalescencji dochodzi do poronień (28, 31), których odsetek może wynosić 40—50% (7, 12). Po naturalnym zakażeniu EAV u koni dorosłych nie notuje się przypadków śmiertelnych, mogą one natomiast występować u źrebiąt (11). U koni zakażonych doświadczalnie chorobotwórczym szczepem Bucyrus EAV śmiertelność wynosi około 40% (7). Szczepy wirusa o niskiej zjadliwości wywołują infekcje bezobjawowe, których skutki są jeszcze mało poznane, m.in. powodują one osłabienie kondycji sportowej koni (19). Mimo nielicznych epizootii choroby, w przebiegu których obserwowano wyraźne objawy kliniczne (6, 8, 10, 18, 25, 32), wyniki badań serologicznych wykazały obecność przeciwciał anti-EAV w surowicy koni w wielu krajach świata (5, 16, 20, 21, 22, 26, 30, 36). Sugeruje to, że większość infekcji wirusem EA ma przebieg asymptotyczny (17). Przez długi okres czasu zainteresowanie EVA było nieznaczne. Wykuch epizootii choroby w Stanach Zjednoczonych A. P. w 1984 r. (31) doprowadził nie tylko do wzrostu zainteresowania znaczeniem EVA w rozrodzie i odchowie koni, lecz spowodował także wprowadzenie ograniczeń w międzynarodowym obrocie końmi wykazującymi obecność przeciwciał anti-EAV w surowicy krwi. Analiza ww. epizootii oraz późniejsze badania epizootiologiczne udokumentowały dalszy, nieuwzględniany dotychczas sposób transmisji wirusa. Stwierdzono, że infekcja wirusem EA zachodzi nie tylko przez układ oddechowy (24, 25), lecz również drogą kontaktu płciowego (34, 35). Według autorów amerykańskich (33) największe znaczenie w rozprzestrzenianiu i utrzymaniu się wirusa w populacji koni mają ogiery siejące bezobjawowo wirus z nasieniem przez długi okres czasu.

Niniejsza praca stanowi kontynuację poprzednich badań (13) mających na celu dwuletnią analizę sytuacji zakażeń wirusem EA na przykładzie izolowanego środowiska stadnin koni „K”.

Materiał i metody

Badania i obserwacje przeprowadzono na wszystkich koniach trzymanyh w stadninie „K”, od stycznia 1989 r. do lutego 1991 r. Ze względu na możliwość występowania w surowicy krwi sasków nieznacznych koncentracji matczy-nych przeciwciał anti-EAV jeszcze do 5 miesiąca życia (15), wyłączone je z bieżących doświadczeń. Klacze, głównie rasy śląskiej oraz półkrwi angielskiej i angloarabskiej użytkowano w stadninie w celu uzyskania surowicy do produkcji gonadotropiny. Podczas trzech kolejnych badań serologicznych wykonanych w odstępach 1 roku, klacze w wieku od 6—12 miesięcy do 12 lat, podzielono na 13 grup oznaczonych kolejnymi literami od A do M. Liczba klaczy w poszczególnych grupach w związku z ich częściową wyprzedacją ulegała zmianom. Ogółem wynosiła ona podczas pierwszego badania (I) — 150 szt., drugiego (II) — 160 szt., trzeciego (III) — 103 szt. W stadninie użytkowano do rozrodu 5 ogierów pełnej krwi angielskiej, półkrwi angloarabskiej lub rasy śląskiej wypożyczane z różnych stad ogierów. W okresach pomiędzy I—II przeglądem serologicznym ich liczba w stadninie wynosiła 2 szt.,

a II—III 3 szt. Na podstawie wyników badań par surowic klaczy z grup od C do K pobranych przed i po kryciu ogierem serologicznie dodatnim pomiędzy I a II badaniem, można było sądzić, że ogier ten był głównym źródłem infekcji wirusem EA w badanych grupach klaczy (13). Krył on klacze w stadninie „K” od lipca 1988 r. do grudnia 1990 r. W celu wykluczenia stanowienia klaczy przez ogiery zakażone, każdego nowo wprowadzanego do stadniny ogiera w okresie pomiędzy II a III przeglądem serologicznym badano na obecność przeciwciał anty-EAV, a następnie kontrolowano serologicznie co 2—3 miesiące.

Badania serologiczne na obecność przeciwciał zobojętniających anty-EAV wykonano w odczynie seroneutralizacji (SN) według Moraillon i Moraillon (26) z użyciem materiałów opisanych poprzednio (14).

Wyniki i omówienie

Odsetek klaczy wykazujących obecność przeciwciał anty-EAV wynosił ogółem w I badaniu — 53,3%, w II — 67,5%, w III — 48,5% (tab. 1). Miana przeciwciał zobojętniających anty-EAV wahały się w granicach od 1:4 do 1:≥512, przy czym podczas kolejnych badań najczęściej stwierdzane wartości mian były w zakresie: 1:64 — 1:128, 1:32 — 1:64, 1:16 — 1:32 (tab. 2). W surowicy klaczy, u których wykazano przeciwciała anty-EAV w I lub II badaniu, notowano ich obecność także w późniejszym okresie. Jest to zgodne z wynikami innych autorów, według których po zakażeniu naturalnym wirusem EA przeciwciała zobojętniające występują w surowicy krwi przez wiele lat, prawdopodobnie

do końca życia konia (9). U żadnego z ogierów w okresie pomiędzy II a III badaniem nie stwierdzono przeciwciał anty-EAV. W 24 na 27 przypadków świeżych zakażeń w okresie od stycznia 1989 r. do stycznia 1990 r., pojawienie się przeciwciał anty-EAV w surowicach klaczy z grup od C do K, zanotowano 3 tygodnie po kryciu serologicznie dodatnim ogierem (13). Po usunięciu tego ogiera ze stadniny liczba nowych infekcji w populacji badanych klaczy wyniosła tylko dwa przypadki. Obecnie zakłada się, że pierwotne zakażenie wirusem EA w wielu wypadkach zachodzi poprzez układ płciowy w czasie krycia wrażliwych klaczy ogierami siejącymi wirus z nasieniem. Zakażone objawowo lub subklinicznie klacze przez kilka dni sieją wirus z układu oddechowego i mogą stać się źródłem wólnej, poziomej transmisji wirusa wśród pełnowrażliwych koni (36). Wyniki badań własnych są zgodne z powyższym założeniem. Jak wcześniej wspomniano, zidentyfikowany, zakażony ogier przebywał w stadninie od lipca 1988 r. do grudnia 1990 r. Kryte nim klacze w wiek zości wypadków wracały po stanowce do stajni ze źrebiętami i mogły być dla nich źródłem infekcji wirusem. Przemawia za tym: 1) znaczny odsetek zakażeń u 6—12 miesięcznych klaczek z grup A (50%) i L (26,7%) — źrebięta te miały kontakt z klaczami krytymi przez zakażonego ogiera, 2) brak zakażeń u klaczek z grupy M, które nie miały kontaktu z klaczami bezpośrednio po kryciu zakażonym ogierem. Dwuletnia analiza sytuacji zakażeń w stadninie „K” potwier-

Tab. 1. Wyniki badań serologicznych na obecność przeciwciał anty-EAV w surowicy krwi klaczy stadniny „K”

Wiek klaczy	I bad. serol. styczeń 1989		II bad. serol. styczeń 1990		III bad. serol. luty 1991	
	Grupa	Liczba świeżych zakażeń w badanej grupie	Grupa	Liczba świeżych zakażeń w badanej grupie	Grupa	Liczba świeżych zakażeń w badanej grupie
6 m-cy	A		L		M	
12 m-cy	18/9		15/4		17/0	
2 l.	B	0	A	0	L	
	13/4		15/7		12/1	
3 l.	C	0	B	0	A	
	9/0		11/3		12/7	
4 l.	D	2	C	0	B	
	13/5		9/2		8/3	
5 l.	E	4	D	0	C	
	17/14		13/9		6/2	
6 l.	F	1	E	1	D	
	13/6		17/15		7/7	
7 l.	G	5	F	0	E	
	24/17		13/11		7/5	
8 l.	H	3	G	1	F	
	17/9		24/20		11/10	
9 l.	I	5	H	0	G	
	11/6		17/14		12/9	
10 l.	J	3	I	0	H	
	7/4		11/9		8/5	
11 l.	K	3	J	0	I	
	8/6		7/7		3/1	
12 l.	—	1	K	—	—	
			8/7			
Razem:	150/80	27 *	160/108	2	103/50	

Objaśnienia: * — w 24 na 27 wypadków występowanie przeciwciał anty-EAV w surowicy krwi klaczy stwierdzono po kryciu ogierem serologicznie dodatnim (13).

Tab. 2. Odsetek wartości mian przeciwciał zobojętniających anty-EAV w surowicach krwi klaczy stadniny „K”

Miano SN	Odsetek dodatnich seroreagentów		
	I badanie	II badanie	III badanie
1:4	3,75	1,85	2,0
1:8	7,5	7,4	12,0
1:16	8,75	9,25	28,0
1:32	12,5	21,3	24,0
1:64	25,0	24,1	18,0
1:128	22,5	17,6	8,0
1:256	13,75	12,0	4,0
1:≥512	6,25	6,5	4,0

Objaśnienia: kolejne badania serologiczne (I, II, III) wykonano w odstępach 1 roku.

dza wyniki badań i obserwacji innych autorów (33), według których największe znaczenie w epidemiologii EVA mają ogiery siejące bezobjawowo wirus z nasieniem przez długi okres czasu.

Ze względu na powszechne występowanie zakażeń wirusem EA w wielu stadninach koni rasowych w kraju (14), konieczne jest wprowadzenie odpowiedniego programu profilaktyki i kontroli EVA bazującego m.in. na identyfikacji, izolacji i stopniowej eliminacji ogierów, szczepieniach profilaktycznych pełnowrażliwych ogierów użytkowanych do rozplodu oraz ograniczeniu krycia przez ogiery zakażone do stanowienia klaczy uodpornionych w sposób sztuczny lub naturalny.

Piśmiennictwo

1. Brion A., Fontaine M., Moraillon R.: Recl Méd. vét. 143, 17, 1937.
2. Bürki F.: Path. Microbiol. 28, 939, 1965.
3. Bürki F.: Proc. 2nd Int. Conf. Equine Infectious Diseases. Paris, 1969, s. 125.
4. Bürki F., Gerber H.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 20, 391, 1966.
5. Ceccarelli A., Agrimi P., Piragino S.: Zooprofilassi 27, 245, 1972.
6. Collins J. K., Kari S., Ralston S. L., Bennet D. G., Traub-Dargatz J. L., McKinnon A. O.: Prev. Vet. Med. 4, 389, 1987.
7. Doll E. R., Bryans J. T., McCollum W. H., Crowe M. E. W.: Cornell Vet. 37, 3, 1957.

8. Doll E. R., Knappenberger R. E., Bryans J. T.: Cornell Vet. 47, 69, 1957.
9. Fukunaga Y., McCollum W. H.: Am. J. vet. Res. 38, 2343, 1977.
10. Gołnik W., Michalak T.: Medycyna Wet. 35, 105, 1979.
11. Gołnik W., Michalska Z., Michalak T.: Schweiz. Arch. Tierheilk. 123, 523, 1981.
12. Gołnik W., Morillon A., Gołnik J.: J. Vet. Med. B 33, 413, 1986.
13. Gołnik W., Pawęska J., Dzik W.: Ogier potencjalnym źródłem zakażenia wirusem zapalenia tętnic koni. Medycyna Wet. 1991 (w druku).
14. Gołnik W., Pawęska J.: Występowanie zakażeń wirusem zapalenia tętnic u koni z różnych stadnin. Medycyna Wet. 1991 (w druku).
15. Gołnik W., Pawęska J., Dzik W.: Katedra Mikrobiologii Weterynaryjnej AR Wrocław 1991, dane niepubl.
16. Herbst W., Schliesser Th.: J. Vet. Med. B 34, 283, 1987.
17. Horzinek M. C.: Non-arthropod-borne Togaviruses. Academic Press, London 1981.
18. Jaksch W., Sibalin M., Tausin E., Pichler L., Bürki F.: Dt. tierärztl. Wschr. 80, 317, 1973.
19. Kaaden O. R., Hass L., Klopries M.: Wien. tierärztl. Mschr. 76, 475, 1989.
20. Kölbl S., Schuller W., Pabst J.: Dt. tierärztl. Wschr. 98, 43, 1991.
21. Lang G., Mitchel W. R.: J. Equine Vet. Sci. 4, 153, 1984.
22. Liebermann H.: Arch. exp. VetMed 42, 265, 1988.
23. McCollum W. H.: J. Am. vet. med. Ass. 155, 318, 1969.
24. McCollum W. H., Prickett M. E., Bryans J. T.: Res. vet. Sci. 2, 459, 1971.
25. McCollum W. H., Swerczek T. W.: J. Equine Med. Surg. 2, 293, 1978.
26. Morillon A., Morillon R.: Anns Rech Vét. 9, 43, 1978.
27. Morillon R., Morillon A.: Recl. Méd. vét. 150, 1015, 1974.
28. Mumford J. A.: Equine vet. J. 17, 5, 1985.
29. Murphy T. W., Timoney P. J., McCollum W. H.: Proc. 5th Int. Conf. Equine Infectious Diseases, Kentucky 1988, s. 3.
30. Noseto E. O., Etcheverrigary M. E., Oliva G. A., Gonzalez E. T., Samus S. A.: Zentbl. Vet Med B 31, 523, 1984.
31. Timoney P. J., McCollum W. H.: Equine Vet. Sci. 8, 54, 1988.
32. Timoney P. J., McCollum W. H., Roberts A. W.: The blood horse 38, 5892, 1985.
33. Timoney P. J., McCollum W. H., Roberts A. W.: Proc. Am. Ass. Eq. Pract. 32, 57, 1985.
34. Timoney P. J., McCollum W. H., Roberts A. W.: Vet. Rec. 129, 382, 1987.
35. Timoney P. J., McCollum W. H., Roberts A. W., McDonald M. J.: J. Am. vet. med. Ass. 191, 36, 1987.
36. Timoney P. J., McCollum W. H., Roberts A. W.: Current strategies for the control of Equine Viral Arteritis. Proc. 92nd Annual Meeting of the United States Animal Health Ass., Little Rock. Arkansas 1988, s. 211.
37. Van Berlo M. F., Horzinek M. C., Van der Zeijst B. A. M.: Virology 118, 345, 1982.
38. Van der Zeijst B. A. M., Horzinek M. C., Moennig V.: Virology 68, 418, 1975.
39. Westway E. G., Brinton M. A., Gaidamovich S. Ya., Horzinek M. C., Igarashi A., Kaariainen L., Lvov D. G., Porterfield J. S., Russel P. K., Trent D. W.: Togaviridae. Intervirology. 24, 125, 1985.

Adres autora: doc. dr hab. Witold Gołnik, ul. 1 Dywizji, 51-627 Wrocław

JANUSZ ANDZIAK, ZBIGNIEW ANUSZ, ANTONI JAKUBCZAK

Ocena chorobotwórczości *Aeromonas hydrophila* izolowanych od ryb na terenie województwa olsztyńskiego

Katedra Epizootologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR-T, ul. Oczapowskiego 13, 10-957 Olsztyn-Kortowo II

Summary

Evaluation of pathogenic *Aeromonas hydrophila* isolated from fish in the Olsztyn province

The evaluation of potential pathogenicity of *A. hydrophila* strains isolated from healthy fish was carried out on the basis of their ability to produce enterotoxins, beta-haemolysins and to haemagglutinate blood cells in humans and guinea pigs.

The studies comprised 29 strains of *A. hydrophila* isolated from 67 fish from 6 fish-breeding stations in the Olsztyn province. No correlation was found between the ability of the examined strains to agglutinate human and guinea pig erythrocytes, and the enterotoxicity and hemolytic activity. Some correlation was found between the enterotoxicity of the strains and their hemolytic activity.

Incubation of *A. hydrophila* strains at temp. 25°C allows to detect more enterotoxic strains (31% strains) than at temp. 37°C (13% strains).

Intensywne badania nad patogennością *Aeromonas hydrophila* rozpoczęto w latach osiemdziesiątych po izolacji tej bakterii z przypadków zakażeń i zatruc pokarmowych u ludzi (5, 10, 12). W poszukiwaniu naturalnego rezerwuaru tego gatunku poddano również badaniom w kierunku toksyczności szczepy izolowane ze środowiska (1, 15, 16, 17). Żywność także została poddana badaniom na obecność tego drobnoustroju, a szczególnie mięso zwierząt hodowlanych (17, 18). Szczególną uwagę w ostatnim okresie zwrócono na ryby, dla których *A. hydrophila* jest patogenny oraz z powodu nosicielstwa tej bakterii, jakie spotykane jest u różnych gatunków ryb hodowlanych oraz dziko żyjących (3, 13, 19, 21).

Badania nad chorobotwórczością szczepów izolowanych od ryb dotyczyły głównie wytwarzania przez nie toksyn o charakterze białkowym, tj. enterotoksyny cyto-

toksycznej, toksyny analogicznej do przecinkowca cholery, beta-hemolizyny (14, 18, 19). Niektórzy autorzy wykazali istnienie koleracji pomiędzy wytwarzaniem toksyn a właściwościami hemolitycznymi poszczególnych szczepów (18) lub wytwarzaniem beta-hemolizyny a rozkładem arabinozy, sacharozy oraz syntezę elastazy (19). Burke i wsp. (5) również wykazali istnienie zależności pomiędzy enterotoksycznością szczepów a dodatnią reakcją Voges-Proskauer i niezdolnością do rozkładu arabinozy. Burke i wsp. (6) sugerują, aby zdolność do hemaglutynacji erytrocytów człowieka brać pod uwagę jako wskaźnik chorobotwórczości.

Celem pracy była ocena potencjalnej chorobotwórczości szczepów *A. hydrophila* izolowanych od zdrowych ryb na podstawie ich zdolności do wytwarzania enterotoksyn, beta-hemolizyn oraz hemaglutynacji krwinek ludzkich i świnki morskiej. Wykazanie potencjalnej chorobotwórczości *A. hydrophila* wyizolowanych od ryb wydaje się istotne, ponieważ ryby stanowią prawdopodobnie rezerwuari i źródła zakażenia i zatruc dla człowieka.

Material i metody

Badaniu poddano 29 szczepów *A. hydrophila* od 67 ryb pochodzących z 6 obiektów hodowlanych województwa olsztyńskiego. Wyizolowane szczepy były reidentyfikowane w Państwowym Zakładzie Higieny w Warszawie. Hemolityczną aktywność określano na podstawie wykrywania hemolizyn bezpośrednich. Do badań użyto podłoża TSA (trypcase Soy Agar) z dodatkiem 5% odwióknionej krwi baraniej i króliczej. Oznaczenia wykonano zgodnie z metodą Bieleckiej i wsp. (2). Aglutynację krwinek ludzkich i świnki morskiej w temperaturze 20°C i 4°C w obecności D. mannozy wykonano wg Evans i wsp. (9). Enterotoksyczność szczepów hodowlanych na podłożu TSB (Trypcase Soy Broth) w temp. 25°C i 37°C określano w teście na oseskach mysich wg Dean i wsp. (8) i Giannella i wsp. (11). Używano do badań 2-3-dniowych osesków mysich szczepu Balb/c,