

Piśmiennictwo

1. *Bramlage R. L.*: 18th Annual Veterinary Surgical Forum Proceedings for Equine Orthopedics. Chicago, Illinois. 309-311, 1990.
2. *Bramlage R. L.*: Referat: An update on the repair of exercise induced fractures and their prognosis for return to athletic use, 2 Internationaler Kongreß für Orthopädie bei Huf- und Klautentieren an der Veterinärmedizinischen Universität Wien. 6-9 Oktober 1993.
3. *Fackelman G. E., Nunamaker D. M.*: Manual of Internal Fixation in the Horse. Springer-Verlag Berlin, 56-60, 1982.

4. *Kulczycki J.*: Pęknięcia kości pęcinowej u konia. Wiad. Wet. 227, (6), 214-218, 1939.
5. *Schneider R. K.*: 18th Annual Veterinary Surgical Forum Proceedings for Equine Orthopedics. Chicago, Illinois. 312-314, 1990.
6. *Wyn-Jones G.*: Equine Lameness, Blackwell Scientific Publications. Oxford, 237-272, 1988.

Adres autora: dr Andrzej Bereznowski ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

CEZARIUSZ HUŁAS, KRZYSZTOF ANUSZ, STEPHEN F. LEŚNIEWSKI, ARTUR DOBRZYŃSKI

Szybka diagnostyka zakażeń wirusem CPV-2 u psów

Katedra Epizootologii z Kliniką Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Summary

Rapid diagnosis of CPV-2 infections in dogs

Clinical signs, haematology (leucopenia, lymphopenia, neutropenia) and results at necropsy may only suggest a disease suspected of a parvovirus etiology. Real proof of this kind infection is based on identification of canine parvovirus in faeces of a sick dog. Because of the common occurrence of CPV-2 infections in dogs there is need to introduce a rapid test which would make it possible to perform a proper diagnosis immediately after the collection of the samples of faeces in hospital.

In this paper the presence of CPV-2 was demonstrated by means of the test developed by On-Site Biotech (Uppsala, Sweden) on 41 of 50 stool samples with clinical signs suggesting parvovirus disease. Of 41 infected dogs 40 were leucopenic (leucocytes ≤ 4.5 G/L), lymphopenic (lymphocytes ≤ 1.3 G/L) and neutropenic (neutrophils ≤ 4.0 G/L). Of nine dogs uninfected with CPV-2, none showed leucopenia, lymphopenia or neutropenia.

W przebiegu zakażenia wirusem CPV-2 (*Canine Parvovirus* – 2) dominują objawy ze strony układu pokarmowego – wymioty i biegunka. Chorują najczęściej psy w wieku od 3 do 12 miesięcy (80%), u których stwierdza się jednocześnie leukopenię. Spadek liczby leukocytów poniżej 6 G/l uważany jest za wskaźnik patognomiczny parwowirusowej choroby psów (1, 2, 5).

Objawy kliniczne, wyniki badań hematologicznych i anatomicznych mogą jednak tylko sugerować podejrzenie choroby parwowirusowej. Jednoznacznym dowodem zakażenia jest wykrycie wirusa CPV-2 w kale chorych zwierząt. Do niedawna najszybszą i najbardziej wiarygodną metodą wykrywania wirusa w kale psów klinicznie podejrzanych o chorobę parwowirusową, był odczyn hemaglutynacji w modyfikacji Carmichael'a (HA-HI) (4, 7). Jego wykonanie wymaga jednak warunków laboratoryjnych, a ostateczny wynik uzyskuje się po około 25 godzinach (wstępny odczyt po 4 godzinach).

Wobec nadal szerokiego rozpowszechnienia zakażeń wirusem CPV-2 u psów, koniecznym stało się wprowadzenie szyb-

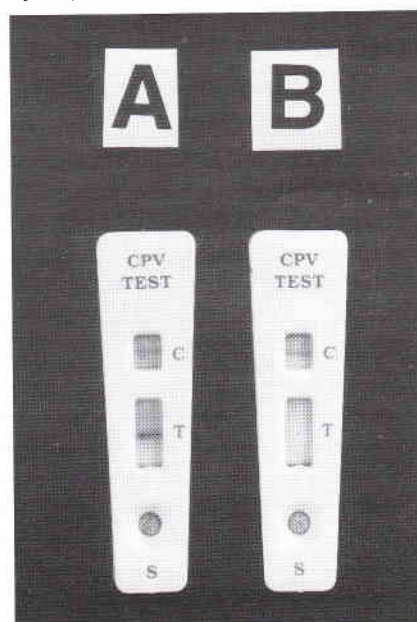
kich metod diagnostycznych, możliwych do wykonania i oceny w ambulatorium bezpośrednio po pobraniu materiału do badań (wymazów lub próbek kału z prostnicy).

W ośrodkach medycznych zajmujących się diagnostyką i terapią schorzeń zakaźnych przewodu pokarmowego już od pewnego czasu stosuje się testy aglutynacji lateksowej, w większości przeznaczone do wykrywania w kale pacjentów rotawirusów oraz *Clostridium difficile* (6, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18).

Celem naszych badań była wstępna ocena przydatności testu firmy On-Site Biotech (Uppsala, Szwecja) do szybkiej, wykonywanej w warunkach ambulatoryjnych, diagnostyki zakażeń wirusem CPV-2 u psów podejrzanych klinicznie o chorobę parwowirusową. Jednocześnie wykonano badania hematologiczne spodziewając się, że ich wyniki mogą przyczynić się do uwiarygodnienia testu.

Materiał i metody

Od 50 psów obydwu płci, w wieku od 7 do 16 tygodni, wcześniej nie szczepionych przeciwko zakażeniu wirusem CPV-2,



Ryc. 1. Wizualna ocena wyników testu On-Site Biotech (Uppsala, Szwecja). Płytką A – wynik dodatni. Płytką B – wynik ujemny

będących potomstwem szczepionych i nie szczepionych matek (1) pobrano próbki kału za pomocą testowych łyżeczek bezpośrednio z prostnic. Każdą z łyżeczek z pobraną próbką umieszczano w testowej probówce z płynem. Probówki mocno zakręcano, a następnie poprzez ich potrząsanie rozpuszczano próbki kału w płynie testowym.

Tab. 1. Wyniki badań hematologicznych (obraz białokrwinkowy) oraz próbek kału na obecność wirusa CPV-2 u psów podejrzanych klinicznie o chorobę parwowirusową

Lp.	Liczba leukocytów G/l	Liczba neutrofilii (G/l)		Liczba limfocytów (G/l)
		palczkowate	segmentowane	
CPV-2 w kale (-)				
1.	7.200	0.216	4.464	2.520
2.	7.200	0.072	4.320	2.808
3.	7.000	0.140	4.900	1.960
4.	11.400	0.342	7.524	3.534
5.	8.600	0	6.020	2.580
6.	9.000	0.270	7.200	1.530
7.	7.900	0.316	6.004	1.580
8.	11.400	0.342	7.638	3.420
9.	13.600	0	9.520	4.080
CPV-2 w kale (+)				
10.	4.000	0.080	3.120	0.800
11.	3.800	0.038	2.926	0.836
12.	3.900	0.156	3.120	0.624
13.	3.500	0.035	2.660	0.455
14.	4.000	0.080	2.760	1.160
15.	3.300	0.132	2.508	0.660
16.	4.200	0.042	3.234	0.924
17.	4.000	0.120	2.800	1.080
18.	3.400	0	2.720	0.680
19.	4.300	0	3.311	0.989
20.	3.000	0.060	2.400	0.540
21.	2.800	0.196	2.240	0.364
22.	3.200	0.032	2.464	0.384
23.	3.900	0.039	3.042	0.819
24.	4.600	0.092	3.726	0.782
25.	6.000	0.180	4.620	1.200
26.	3.100	0	2.449	0.651
27.	3.900	0.117	3.003	0.780
28.	3.600	0.036	2.916	0.648
29.	4.200	0.126	3.318	0.504
30.	4.000	0.040	3.080	0.480
31.	4.100	0.082	2.501	1.517
32.	3.000	0.030	2.610	0.360
33.	4.000	0	3.360	0.640
34.	4.000	0	3.600	0.400
35.	4.100	0.123	3.157	0.820
36.	3.700	0	3.108	0.592
37.	3.600	0	2.880	0.720
38.	4.000	0.120	3.160	0.720
39.	4.000	0.040	3.120	0.760
40.	3.600	0.036	2.916	0.648
41.	3.900	0	3.198	0.702
42.	4.300	0.129	2.881	1.290
43.	4.100	0.041	3.321	0.738
44.	4.200	0	3.318	0.882
45.	3.600	0.036	2.844	0.720
46.	4.000	0.080	3.120	0.800
47.	3.900	0.039	3.003	0.858
48.	3.000	0	2.400	0.600
49.	2.900	0.087	2.030	0.783
50.	2.800	0	2.240	0.560

Tak przygotowane próbki pozostawiano w temperaturze pokojowej do momentu całkowitej sedymentacji nie rozpuszczonych cząstek. Następnie pipetą nanoszono 5 kropli płynnego materiału do okrągłego okienka płytki testowej, oznaczonego literą S. (ryc. 1). W okienku tym znajdują się kuleczki lateksowe, opłaszczane przeciwciałami przeciwko wirusowi CPV-2. Przeciwciała przeciwko temu wirusowi związane są również z membraną bibułowatą widoczną w okienku prostokątnym płytki testowej, oznaczonym literą T. (ryc. 1).

Jeżeli w odpowiednio przygotowanej próbce kału znajduje się wirus CPV-2, to zostaje związany przez przeciwciała opłaszczające kuleczki lateksowe w okienku S. Następnie taki kompleks migruje w membranie bibułowatej i wiąże się ze znajdującymi się w niej przeciwciałami przeciwko wirusowi CPV-2. Wizualnym odzwierciedleniem tego procesu jest pojawienie się w okienku T poprzecznego niebieskiego pasa (ryc. 1). W przypadku pozytywnego wyniku testu powinno to nastąpić 5 minut po nakropieniu na płytkę próbki kału.

Na płycie testowej znajduje się również prostokątne okienko oznaczone literą C. W okienku tym powinien zawsze pojawić się poprzeczny niebieski pas, co świadczy o prawidłowym wykonaniu testu (ryc. 1).

Od każdego z 50 psów podejrzanych klinicznie o chorobę parwowirusową pobrano również krew do badań hematologicznych. Określono liczbę leukocytów, liczby bezwzględne limfocytów i granulocytów obojętnochłonnych, liczbę erytrocytów, hematokryt, poziom hemoglobiny. Spodziewając się znacznych zaburzeń przede wszystkim w obrazie białokrwinkowym przyjęto stosunkowo łagodne kryteria jego oceny. Według nich liczba leukocytów poniżej $\leq 4,5$ G/l świadczy o leukopenii, liczba limfocytów poniżej $\leq 1,3$ G/l o limfopenii, a liczba granulocytów obojętnochłonnych poniżej $\leq 4,0$ G/l o neutropenii.

Testem chi-kwadrat przeprowadzono analizę zależności między wynikami testu a wynikami badań hematologicznych, płcią, faktem szczepienia lub braku szczepienia matek psów podejrzanych o chorobę parwowirusową, wynikami czynności terapeutycznych (wyleczony – śmierć).

Wyniki i omówienie

Szybkim testem diagnostycznym firmy On-Site Biotech (Uppsala, Szwecja) wykazano obecność wirusa CPV-2 w 41 próbkach kałowych spośród 50 pobranych od psów podejrzanych klinicznie o chorobę parwowirusową.

Spśród 41 psów zakażonych u 40 stwierdzono leukopenię, limfopenię i neutropenię (tab. 1). Wielu autorów stosowało do oceny wyników badań hematologicznych ostrzejsze kryteria, według których u wszystkich psów zakażonych występowała leukopenia, limfopenia i neutropenia (1, 2). U żadnego z 9 psów nie zakażonych wirusem CPV-2 nie stwierdzono leukopenii, limfopenii i neutropenii.

Analiza statystyczna testem chi-kwadrat wykazała zależność między wykazaniem testem zakażeniem wirusem CPV-2 u psów z objawami ze strony przewodu pokarmowego a leukopenią (liczba leukocytów poniżej $\leq 1,3$ G/l i neutropenią (liczba granulocytów obojętnochłonnych poniżej $\leq 4,0$ G/l ($\chi^2 = 43,90$ $p \leq 0,001$). Natomiast nie wykazano istotnej zależności między wynikiem testu, a liczbą erytrocytów, poziomem hemoglobiny, wartością hematokrytu, płcią, faktem szczepienia lub braku szczepienia matki psa podejrzanego o chorobę parwowirusową, wynikiem czynności terapeutycznych (wyleczony – śmierć).

Należy podkreślić, że tak znacznych zaburzeń w obrazie białokrwinkowym nie obserwuje się w innych chorobach psów przebiegających z objawami ze strony przewodu pokarmowego – zakażeniach koronawirusami, syndromie hemoargicznym jelit, kamylobakteriozie, nosówce, chorobie Rubartha, zatruciach

środkami chemicznymi i silnych inwazjach pasożytniczych (8). W przebiegu parwowirusowej choroby psów obserwowano upośledzenie namnażania limfocytów, ich kariorektyczny rozpad w węzłach chłonnych oraz zanik grudek chłonnych w śledzionie (1, 3, 15). Skutkiem rozległej limfocytolizy w grasicy, w węzłach chłonnych i śledzionie jest limfocytopenia (5, 10). Neutropenia jest konsekwencją przesiąkania granulocytów obojętnochłonnych do światła jelita przez uszkodzone komórki nabłonka oraz powstawanie masywnych nacieków zapalnych w ścianie jelita cienkiego z licznym udziałem tych komórek (11).

Podsumowując należy stwierdzić, że prezentowany test do wykrywania wirusa CPV-2 w kale psów podejrzanych klinicznie o chorobę parwowirusową wydaje się być w pełni wiarygodnym i spełnia wymagania szybkiej metody diagnostycznej, możliwej do zastosowania w warunkach ambulatoryjnych. Zastosowanie tak szybkiej metody (czynności przygotowawcze i odczyt zajmują około 10 minut) pozwala na natychmiastowe podjęcie odpowiednich działań terapeutycznych i co szczególnie ważne przeciwpizootycznych. Trzeba bowiem pamiętać, że do zakażenia wirusem CPV-2 dochodzi na drodze alimentarnej, głównie przez kał. Ilość wydalanego wirusa w kale jest bardzo duża. Wykazano, że psy zakażone wydają około 10^{12} wirionów CPV-2 w 1 gramie kału. Tak więc możliwość szerzenia się zakażenia jest znaczna, tym bardziej jeżeli uwzględni się fakt, że około 1000 wirionów stanowi dawkę zakażającą (3, 4, 14).

Piśmiennictwo

1. Appel M. J. G., Cooper B. J., Greisen H., Carmichael L. E.: J. Am. vet. med. Ass. 173, 1516, 1978.

2. Appel M. J. G., Cooper B. J., Greisen H., Scoott F., Carmichael L. E.: Cornell Vet. 69, 123, 1979.
3. Carman P. S., Porey R. C.: Vet. Rec. 107, 447, 1980.
4. Carmichael L. E., Joubert J. C., Pollock R. V. H.: Am. J. vet. Res. 41, 784, 1980.
5. Carmichael L. E., Joubert J. C., Pollock R. V. H.: Cornell Vet. 71, 408, 1981.
6. Chakravarti A., Kumar S., Mittal S. K., Broor S.: Indian Pediatr. 28, 507, 1991.
7. Hulas C.: Medycyna Wet. 46, 489, 1990.
8. Kramer J. M., Meunier P. C., Pollock R. V. H.: Vet. Med. small Anim. Clin. 75, 544, 1980.
9. Kurzyński T. A., Kimball J. L., Schultz D. A., Schell R. F.: Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 15, 493, 1992.
10. Macartney L., Mc Candlish I. A. P., Thompson H., Cornwell H. J. C.: Vet. Rec. 115, 201, 1984.
11. Macartney L., Mc Candlish I. A. P., Thompson H., Cornwell H. J. C.: Vet. Rec. 115, 453, 1984.
12. Mattia A. R., Doern G. V., Clark J., Holden J., Wu L., Ferraro M. J.: Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 12, 882, 1993.
13. Pai C. H., Shahrabadi M. S., Ince B.: J. clin. Microbiol. 22, 846, 1985.
14. Pollock R. V. H.: Cornell Vet. 72, 103, 1982.
15. Robinson W. F., Wilcox G. E., Flower R. L. P.: Vet. Pathol. 17, 589, 1980.
16. Ruggeri F. M., Marziano M. L., Salvatori E., Bisicchia R., Scardellato U., Scagnelli M., Modolo M. L., Santini G., Donelli G.: Microbiologica 15, 249, 1992.
17. Spencker F. B., Weiss J., Handrick W., Rieske K., Springer W.: J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immun. 31, 65, 1987.
18. Vries W. P., Houben A. W., Srobberingh E. E.: Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 5, 542, 1986.

Adres autora: dr Cezariusz Hulas, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

BEATA MIZAK, JERZY GÓRSKI

Występowanie przeciwciał parwowirusowych u lisów hodowlanych i norek w Polsce

Zakład Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Summary

Antibodies against parvovirus in breeding foxes and minks in Poland

The purpose of the study was to carry out serological examinations in foxes originating from farms with unsatisfied reproduction results located in the Silesia, Lublin, Mazowsze, Pomorze, Mazury and Wielkopolska districts. Moreover, the same examinations were conducted in reference to sera of mink with bad reproduction findings. Out of 435 sera from 17 fox farms, HI antibodies were found in 28.6 per cent. Specific antibodies were also recorded in 2 of 3 mink farms. Of 132 sera, the antibodies were found in 72 samples (54.5 per cent). In addition, from 19 samples of faeces, homogenized internal organs of 7 foetuses and the uterus of a pregnant mink, a parvovirus was isolated (their HA=640-2560). A marked distribution of parvovirus infections in foxes indicates that vaccination should be carried out in the animals

before copulation. However, other reasons, such as unsatisfactory nutrition, could influence bad reproduction results.

Zakażenia parwowirusowe stwierdzano wielokrotnie u człowieka i różnych gatunków zwierząt gospodarskich, udomowionych i wolno żyjących (6). Najczęściej wywołują one biegunki. U świń i jak się ostatnio okazało, również u lisów hodowlanych, powodować mogą także wczesne zamieranie i mumifikację płodów (1, 4, 5, 11, 12, 14).

Pierwszej izolacji wirusa od lisów dokonała w Finlandii Veijalainen w 1983 r. (13), a w Polsce Mizakowa w 1994 r. (8). Zarówno w Finlandii jak i w Polsce stwierdzono występowanie przeciwciał parwowirusowych u lisów niebieskich (2, 9, 11, 12, 13) oraz wykazano związek przyczynowo-skutkowy między ich występowaniem a wzrostem liczby samic bez potomstwa. Wcześniejsze badania Górskiego i wsp. (3), przeprowadzone w latach 1990-92, wykazały występowanie przeciwciał parwowirusowych u lisów w fermach dolnośląskich i lubelskich.