

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 uwzględnimy 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.

Celem pracy było przeprowadzenie badań serologicznych lisów pochodzących z ferm usytuowanych w innych regionach kraju, zwłaszcza z hodowli osiągających złe wyniki w rozrodzie. Kierując się podobnymi założeniami podjęto badania serologiczne także w fermach nerek, w których wyniki hodowlane w ostatnich latach były złe.

Materiał i metody

Surowice. W latach 1993-94 przebadano 435 surowic lisów, pochodzących z 17 ferm zlokalizowanych na Górnym i Dolnym Śląsku, Lubelszczyźnie, Mazowszu, Pomorzu i Mazurach oraz w Wielkopolsce. Krew pobierano w listopadzie i grudniu, od samic prawidłowo krytych, 2 lub 3-krotnie, które nie urodziły młodych. W niektórych fermach krew pobrano również od samic, które poroniły na kilka, kilkanaście dni przed spodziewanym terminem porodu lub urodziły martwe i słabe szczenięta. Około 90% próbek krwi zostało pobranych od lisów niebieskich, a pozostałe od lisów srebrzystych. Krew pobierano także od 132 nerek, o różnym ubarwieniu, które mimo krycia we właściwym terminie, pozostały jałowe. Zwierzęta pochodziły z 3 ferm; 2 zlokalizowanych na Mazurach oraz z 1 zlokalizowanej w pobliżu Warszawy. Uzyskane surowice inaktywowano przez 30 minut w 56°C i do czasu badania przechowywano w temperaturze ok. -20°C. Ponadto testem hemaglutynacji przebadano w kierunku obecności parwowirusa 29 próbek kału nerek, 25 martwych płodów oraz 4 macice ze zmumifikowanymi płodami, pobrane od zwierząt poddanych ubojowi diagnostycznemu.

Wirusy. Do odczynów hemaglutynacji (HA) i zahamowania hemaglutynacji (HI) wykorzystywano parwowirus psów (CPV), namnażany w komórkach linii ciągłej płuc kota, oznaczonej Fc, o mianie 320-1280. Do badania surowic w odczynie krzyżowej hemaglutynacji wykorzystano także, namnażane w liniach ciągłych komórek kota, parwowirus kotów (FPV), parwowirus nerek (MEV) i parwowirus lisów (BFPV). Antygeny wirusowe do HA i HI przechowywano w zamrożeniu (ok. -20°C) lub w postaci liofilizowanej.

Odczyny HA i HI. Wykonywano je na mikroplatkach Nunc, w sposób opisany przez Górskiego i wsp. (3). Do odczynu HI używano wyłącznie surowic adsorbowanych 25% kaolinem (7). Wyniki podano jako odwrotność najwyższego rozcieńczenia, w którym obserwowano aglutynację krwinek, z wyraźnie postrzępionym brzegiem (odczyn HA) lub całkowity brak zlepiania krwinek, z wyraźnie ostro odgraniczonym brzegiem krążka skupionych krwinek (odczyn HI).

Wyniki i omówienie

Parwowirusy występujące u zwierząt mięsożernych reagują w odczynie zahamowania hemaglutynacji zarówno z surowicami homologicznymi jak i heterologicznymi (4, 10). Potwierdzono to w opublikowanych badaniach własnych (2). Spośród 404 zbadanych wówczas surowic lisów, 55% było dodatnich z antygenem FPV, a 60% z CPV, przy czym uzyskane miana HA różniły się nieznacznie. Postanowiono dodatkowo sprawdzić wybrane ujemne i dodatnie surowice wobec antygenów homologicznego i heterologicznych, sporządzonych z parwowirusów psów (CPV), kotów (FPV), nerek (MEV) i lisów (BFPV). Wyniki przedstawione w tab. 1 wskazują jednoznacznie na występowanie reakcji krzyżowych. Do dalszych badań użyto zatem CPV, gdyż wirus ten jest stale używany w laboratorium oraz dla ewentualnego zapobieżenia przypadkowym kontaminacjom. Użycie heterologicznego parwowirusa mogło nieznacznie wpłynąć na wysokość miana przeciwciał, jednak wydaje się, że test pozostał dostatecznie czuły dla wykazania obecności przeciwciał i ustalenia liczby seroreagentów.

Tab. 1. Porównanie serologiczne parwowirusów zwierząt mięsożernych w krzyżowym odczynie zahamowania hemaglutynacji

Surowica użyta do badań	Miano HI przeciwciał parwowirusowych wobec:			
	CPV	BFPV	FPV	MEV
Psa szczepionego przeciwko CPV	640	160	80	10/20
Psa CPV ujemna	< 10	< 10	< 10	< 10
Lisia BFPV dodatnia	80	640	80/160	160
Lisia BFPV ujemna	< 10	< 10	< 10	< 10
Kota szczepionego FPV	80	160	160/320	80/160
Kota FPV ujemna	< 10	< 10	< 10	< 10
Norki MEV dodatnia	160	320	160/320	640
Norki MEV ujemna	< 10	< 10	< 10	< 10

Objaśnienia: CPV – parwowirus psów, BFPV – parwowirus lisów niebieskich, FPV – parwowirus kotów (panleukopenia), MEV – parwowirus nerek (*enteritis*).

Wyniki badań lisów przedstawiono w tab. 2, a nerek w tab. 3. W 16 z 17 zbadanych ferm lisów oraz w 2 z 3 ferm nerek badania podjęto w związku z miernymi lub złymi wynikami w rozrodzie. Jedynie w fermie Sk liczba odchowanych do okresu skórowania lisów polarnych i nerek była dość wysoka i wynosiła odpowiednio ok. 6,3 i 3,8 od jednej samicy stada podstawowego. Natomiast w pozostałych hodowlach była znacznie niższa i wynosiła dla lisów polarnych od ok. 1 do 4, dla lisów pospolitych ok. 2, a dla nerek poniżej 1 w fermie S i 2,5 w fermie W. W 13 z 17 zbadanych ferm lisów stwierdzono obecność przeciwciał parwowirusowych. Odsetek

Tab. 2. Przeciwciała parwowirusowe w surowicach lisów badanych w 1993 i 1994 r.

Rok ferma	Liczba surowic		%	Liczba surowic o mianie HI							
	bada- nych	dotat- nich		10	20	40	80	160	320	640	1280
1993											
W	15	15	100			1	3	4	3	3	1
B	9	8	88,9			1		3	1	2	1
Ł	15	8	53,3			1	2		2	3	
Wg	12	5	41,7				2	1	2		
S	35	8	22,9			2	1	1	1	2	1
Sk	40	9	22,5			2	4	1	1	1	
C	9	2	22,2				2				
L	57	12	21,1			1	1		7	3	
D	20	3	15,0				1	1		1	
JW	20	1	5,0								
Cz	16	0	0								
P	15	0	0								
K	10	0	0								
Razem	273	71	26			8	16	11	17	15	3
1994											
Nw	30	22	73,3			1	1	6	8	1	4
Sz	80	31	38,8			2	2	3	6	4	9
Bo	16	1	6,25			1			1		
G	36	0	0								
Razem	162	54	33,3			3	3	4	12	13	13
Ogółem 1993-94	435	125	28,7			3	11	20	23	30	16

Tab. 3. Przeciwciała parwowirusowe w surowicach nerek badanych w 1994 r.

Ferma	Liczba surowic		%	Liczba surowic o mianie HI							
	badanych	dodat- nich		10	20	40	80	160	320	640	1280
W	16	16	100		2		7	4	1	2	
S	76	56	74	5	12	19	8	6	4	2	2
Sk	40	0	0								
Razem	132	72	54,5	5	14	19	15	10	5	4	2

lisów reagujących serologicznie dodatnio był zróżnicowany i wahał się od 5 do 100% zbadanych zwierząt. Porównanie odsetka dodatnich seroreagentów i liczby jałowych samic nie wykazywało jednak wyraźnej korelacji. W fermach o największym odsetku lisów reagujących dodatnio (W, B, Ł, Wg) i znacznym odsetku samic, które pozostały jałowe, analiza żywienia i wyników badań bakteriologicznych pozwoliła wykluczyć ich wpływ na osiągnięte złe efekty hodowlane. Natomiast w pozostałych fermach, a zwłaszcza JW, C i D, prawdopodobnie te czynniki rzutowały na małą liczbę przychówka. Tym bardziej, że w fermach tych obserwowano liczne późne poronienia i komplikacje okresu okołoporodowego (rodzenie słabych lub martwych szceniąt). W fermie JW, w której tylko 1 z 20 badanych surowic wykazała obecność przeciwciał, stwierdzono brak potomstwa u ok. 30% pokrytych samic, rodzenie osesków bardzo słabych i o małej masie ciała (20% u srebrzystych i 30% u polarnych), a ok. 60% szceniąt miało odbarwioną okrywą włosową. W tym gospodarstwie karmę mięsną stanowiły prawie wyłącznie odpady drobiowe, w tym główki – zawierające hormony przysadki. Zwiększają one wydzielanie estrogenów hamujących produkcję progesteronu. Także w fermie Cz, w której u żadnego z 16 badanych lisów nie stwierdzono przeciwciał, padnięcia szceniąt występowały po osiągnięciu wieku ok. 8 tygodni, a ich przyczyną był tak zwany zespół płucno-sercowy.

Poddano analizie również ewentualny związek między wielkością fermy a liczbą seroreagentów. Wysoki odsetek zwierząt reagujących dodatnio występował zarówno w fermach o stadzie podstawowym obejmującym ponad 1000 samic jak i kilkadziesiąt.

W 1994 r. przeprowadzono badania w 3 fermach nerek. Obecność przeciwciał stwierdzono u samic w 2 fermach, a odsetek wyników pozytywnych wynosił 100 i 74% (tab. 3). W obydwu fermach przeciętna liczba odchowanych zwierząt była bardzo niska, a w fermie S nie osiągnęła nawet jednej norki od samicy stada podstawowego. Sytuacja ta utrzymywała się od kilku lat. W związku z tym przeprowadzono badanie stada podstawowego testem jodowym. W latach 1990-93 wyeliminowano z hodowli kolejno 10,6%, 11,6%, 3,6% oraz 13,5% zwierząt. Jednak nie wpłynęło to w sposób uchwytny na wzrost przeciętnej liczby przychówka. Natomiast w fermie Sk norki były wolne od przeciwciał parwowirusowych, a wyniki hodowlane w pełni satysfakcjonujące.

Podsumowując uzyskane wyniki należy wskazać, że dostarczają one nowych danych na temat występowania zakażeń parwowirusowych u lisów i nerek. W latach 1990-92 przeprowadzono badania w fermach zlokalizowanych na Dolnym Śląsku i Lubelszczyźnie. Obecnie potwierdzono serologicznie występowanie zakażeń parwowirusowych również w fermach zlokalizowanych na Górnym Śląsku, w Wielkopolsce, na Mazowszu, Pomorzu i Mazurach.

Oprócz przeprowadzonych badań serologicznych dokonano izolacji wirusa z kału lisów dostarczonych z terenu Wrocławia i z fermy S na Mazurach (8). Ponadto testem hemaglutynacji oraz fluorescencji pośredniej, obecność parwowirusa stwierdzono w 19 spośród 29 próbek kału pochodzącego od nerek z fermy S, a także w rozcierach narządów wewnętrznych 7 z 25 dostarczonych do badań płodów oraz jednej z czterech macic zawierających zmumifikowane płody. Miano hemaglutynacyjne wirusa wahało się od 640 do 2560. Badania wirusologiczne stanowi niezawodne potwierdzenie występowania zakażeń parwowirusowych. Zasluguje przy tym na szczególną uwagę wyosobnienie parwowirusa z macicy nerek. Wyosobnienie wirusa i wysoki odsetek zwierząt reagujących dodatnio w tej hodowli oraz brak innych uchwytnych przyczyn złych wyników w rozrodzie nerek, jednoznacznie wskazuje na przyczynową rolę zakażenia parwowirusowego, na co dotąd nie zwracano uwagi.

Badania serologiczne lisów niebieskich w fermach fińskich, przeprowadzone w latach 1981-82 wykazały wysoki odsetek zwierząt wykazujących przeciwciała parwowirusowe o mianie HI od 160 do 2560 (11). Spadek liczby przychówka u lisów niebieskich w fermach fińskich był przypisywany parwowirusom, co zostało potwierdzone zakażeniem doświadczalnym samic ciężarnych (9, 11, 12, 13, 14). Szczepienia eksperymentalne, z użyciem inaktywowanych szczepionek homologicznych lub heterologicznych, znacząco ograniczyły straty hodowlane (12, 14).

Uzyskane wyniki wskazują na celowość podjęcia szczepień zapobiegawczych. Swoista immunoprofilaktyka okazała się skuteczna w zapobieganiu chorobie parwowirusowej psów, panleukopenii kotów i zakaźnemu zapaleniu jelit nerek. Wyniki podjętych prób stosowania szczepionek doświadczalnych u lisów i nerek w Polsce zostaną podane w kolejnych publikacjach.

Wnioski

1. Znaczne rozprzestrzenienie zakażeń parwowirusowych u lisów i nerek wskazuje na konieczność wprowadzenia szczepień zapobiegawczych całego stada podstawowego przed okresem kopulacji.

2. Należy również zwrócić uwagę na inne przyczyny złych wyników w rozrodzie. Czynniki zakaźne (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp.) oraz błędy żywienia, w znaczący sposób ograniczają liczbę urodzonych i odchowanych zwierząt.

Piśmiennictwo

- Bachmann P. A., Sheffy B. E., Vaughan J. T.: Infect. Immun. 12, 455, 1975.
- Górski J., Zwierzchowski J., Mizak B., Daniel A.: Acta Microbiol. Polon. 42, 157, 1993.
- Górski J., Daniel A., Mizak B., Zwierzchowski J.: Bull. vet. Inst. Pulawy 38, 59, 1993.
- Górski J., Mizak B.: Medycyna Wet. 50, 465, 1994.
- Joo H. S., Donaldson-Wood C. R., Johnson J. T.: Arch. Virol. 51, 123, 1976.
- Kurstak E., Tijssen P.: Comparative aspects and diagnosis. Comparative diagnosis of viral diseases. Academic Press, New York, 1981.
- Larski Z.: Diagnostyka wirusologiczna chorób zwierząt. PWRiL Warszawa, 1977.
- Mizak B.: Bull. vet. Inst. Pulawy 38, 98, 1994.
- Neuvonen E., Veijalainen P., Kangas J.: Vet. Rec. 110, 448, 1982.
- Parrish C. R., Carmichael L. E., Antczak D. F.: Arch. Virol. 72, 267, 1982.
- Veijalainen P.: Acta vet. scand. 27, 159, 1986.
- Veijalainen P.: Vet. Microbiol. 16, 219, 1988.
- Veijalainen P., Neuvonen E., Kangas J.: 3rd Internat. Sci. Congress in Fur Animal Production, Versailles, 58, 1984. s. 58.
- Veijalainen P., Smeds E.: Am. J. Vet. Res. 49, 1941, 1988.

Adres autora: dr Beata Mizak, ul. Sieroszewskiego 21/27, 24-100 Puławy