

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

JERZY GÓRSKI

Myksomatoza królików i jej zwalczanie*)

Badawcza Pracownia Wirusologiczna Puławskich Zakładów Przemysłu Bioweterynaryjnego
Kierownik Pracowni: dr J. GÓRSKI Dyrektor PZPB: dr H. LIS

Myksomatoza królików jest wysoce zaraźliwą chorobą o etiologii wirusowej. Choroba występuje u królików domowych i dzikich. Pojedyncze przypadki opisano u zajęcy jednak bez skłonności do powodowania epizootii. Zakażenie doświadczalne zajęcy wirusem wyosobnionym od królika nie udało się (12, 28, 37).

Myksomatozę opisano po raz pierwszy w r. 1898 w Urugwaju (Santarelli — cyt. wg 19). W Europie pojawiła się w r. 1952 we Francji (9, 10). W latach 1953—1962 objęła pozostałe kraje europejskie. W Polsce pierwsze przypadki zostały rozpoznane w jesieni 1955 r. w woj. poznańskim — u królików dzikich (26) i w woj. katowickim — u królików domowych (32).

Należy sądzić, że myksomatoza przedostała się do naszego kraju z Czechosłowacji — gdzie zanotowano ją już w 1954 r. (cyt. wg 21) lub z NRD — gdzie występuje od 1955 r. (18). Obecnie epizootie myksomatozy są stwierdzane w Polsce często i powodują poważne straty gospodarcze (2, 32, 33, 36, 37, 38). Wg szacunkowych obliczeń Święcha (33) straty spowodowane epizootią myksomatozy we Wrocławiu w r. 1965 wyniosły ok. 500 tys. zł, a wg danych Steffenowej (32) same tylko odszkodowania wypłacone w latach 1966—1969 w woj. katowickim wyniosły 330 tys. zł. Również w innych krajach myksomatoza powoduje straty m. in. w r. 1961 odszkodowania wypłacone na terenie 1 powiatu NRD (cyt. wg 19) wyniosły 46 tys. DM i stanowiły ok. 3,2% ogółu odszkodowań za przypadki u zwierząt. Myksomatoza w Polsce w r. 1966 została włączona do chorób zwalczanych urzędowo (Dz. Ust. nr 38 z 17.IX.1966 r.).

Zagadnienie myksomatozy zasługuje u nas na wnikliwą uwagę m. in. również ze względu na stale rozwijającą się hodowlę królików i eksport ich mięsa. Rozwój hodowli jest zagrożony przez postępujące rozprzestrzenianie się choroby. Należy podkreślić, że stado podstawowe królików w Polsce (cyt. wg 7) liczy obecnie ok. 1 miliona sztuk, średni stan pogłowia ok. 15 milionów sztuk, a skup żywca w roku 1969 wynosił 18 tys. ton, przy czym uzyskano ok. 9 tys. ton mięsa — co pozwoliło wyeksportować do krajów zachodnich 7,9 tys. ton mięsa. Cenny surowiec dla przemysłu włókienniczego stanowią ponadto skóry i włosy.

Na postępujące rozprzestrzenienie się choroby w Polsce wskazują m. in. obserwacje Steffenowej (32) z terenu woj. katowickiego. Wg tej autorki na Górnym Śląsku w latach 1955—1956 wystąpiły 3 epizootie, w latach 1959, 1960 i 1961—62, a w latach 1964 do 1969 — 185 epizootii. Jednocześnie nastąpił wzrost liczby zapowietrzonych powiatów: w r. 1955 — 1 powiat, 1960 — 3 powiaty, 1966 — 8, 1967 — 8, 1968 — 9 i 1969 — 6 powiatów. Podane przyczyny, oraz niedostatek badań krajowych wskazują na celowość zwięzłego przedstawienia nowych danych z piśmiennictwa zagranicznego — dotyczących charakterystyki wirusa myksomatozy, oraz metod zwalczania choroby.

Wirus myksomatozy. Na podstawie cech toksonomicznych, oraz budowy antygenowej wirusy myksomatozy i fibromatozy zostały zaliczone do grupy ospy — *Poxvira*. Zawierają kwas nukleinowy typu DNA, są wrażliwe na eter i chloroform, oraz $\text{pH} \leq 3,0$ (3, 31, 35). Woodroffe i Fenner (39, 40) zaproponowali wydzielenie ich w specjalną podgrupę *Myxoma* — *Fibroma*. Badania cech fizyko-chemicznych (3, 4, 5, 6, 13, 17) wykazały, że wirus myksomatozy ulega inaktywacji przy ogrzewaniu w temp. 56°C po 25 min., w temp. 50°C po 30 min i w temp. 37°C po 60 min. W temperaturze chłodni, zwłaszcza przy przechowywaniu w buforze fosforanowo-glicerynowym przeżywalność wirusa wzrasta do kilku miesięcy, a przy przechowywaniu w temp. -70°C do ponad 3 lat. Wirus poddany liofilizacji z dodatkiem surowicy króliczej nie wykazywał wyraźnego spadku miana zakaźnego przez okres 3 lat. Interesujących danych dostarczyły badania nad utrzymywaniem się zarazka w warunkach naturalnych. W guzach skóry zwierząt padłych wirus zachował zjadliwość w temp. pokojowej przez 3 tygodnie, a w temp. chłodni przez ok. 3 miesiące. W materiale wysuszonym (np. w wysuszonych skórkach królików) przeżywalność jest znacznie wyższa, np. w temp. chłodni wzrasta do ok. 1 roku (12). W związku z tym zostały wykonane badania nad sposobami skutecznej inaktywacji wirusa przy przeróbce włosa na pilśnie. Stwierdzono, że zniszczenie zarazka następuje przy działaniu powietrza ogrzanego do temp. $65-70^{\circ}\text{C}$ przez 90 min., (Simon cyt. wg 19), lub po 1 godz. w temp. 80°C (13). Wysuszony wirus jest wrażliwy na działanie promieni Roentgena (cyt. wg 19). Wirus myksomatozy wytrzy-

*) Pracę oparto na tekście referatu wygłoszonego na posiedzeniu Komisji Hodowli Zwierząt Futerkowych KNZ PAN, w dniu 13.V.1970 r. w Warszawie.

muje działanie 3% kwasu bornego, 2% fenolu, 1% sublimatu i 2% nadjodanu potasu; natomiast szybko ulega inaktywacji pod działaniem 1—2% formaliny (11).

Hodowla wirusa. Początkowo wirusy myksomatozy, a także fibromatozy, były namnażane na królikach. Miano zakaźne materiału pobranego ze zmian skórnych, wątroby lub jąder wynosiło ok. $16^{6.0}$ (20). Badanie Hoffstadta i Pilchera (8) wykazały możliwość hodowli wirusa myksomatozy na błonach zarodków kurzych. Namnażaniu się wirusa towarzyszyło występowanie ospopodobnych krost. Nowsze badania wykazały możliwość hodowli obydwu wirusów na różnych hodowlach komórek (HK) *in vitro* (27, 41). Wg w/w autorów wirus myksomatozy wywołuje w pierwotnych i wtórnych HK nerki królika, oraz w HK ciągłej serca królika wyraźne zmiany cytopatyczne. W zakażonych hodowlach obserwowano po ok. 2 dniach komórki okrągłe, które tworzą różniącą się od reszty tkanki ogniska. Następnie dochodzi do dezintegracji komórek i ich odpadania od szkła. W hodowli pod agarem obserwowano formowanie się charakterystycznych łyseinek. Badania porównawcze miana wirusa (27), wykonane różnymi metodami wykazały: zmiany na błonach zarodków kurzych $1,3 \times 10^{5.0}$, zmiany na skórze królików $1,3 \times 10^{6.0}$, zmiany cytopatyczne w HK nerki królika $7,7 \times 10^{5.0}$, zmiany w HK linii ciągłej serca królika $5,4 \times 10^{5.0}$ i metodą łyseinek w HK nerki królika $9,3 \times 10^{6.0}$ ID₅₀/ml. Wirus fibromatozy w przeciwnieństwie do wirusa myksomatozy powoduje w HK nerki królika jedynie niewielkie zmiany destrukcyjne komórek. Zmiany te po kilku dniach zanikają — pozostaje jedynie pewna ilość zmienionych morfologicznie komórek (komórki kształtu wrzecionowatego). W HK sercu królika zmian cytopatycznych nie obserwowano. Miano wirusa namnażanego w HK nerki królika wynosiło: zmiany na skórze królika $1,7 \times 10^{6.0}$, w HK nerki królika efekt cytopatyczny $1,3 \times 10^{6.0}$; metoda plaque $1,6 \times 10^{6.0}$ ID₅₀/ml. Padgett i wsp. (27) zwrócili uwagę na wyraźną różnicę wielkości produkowanych przez oba wirusy łyseinek (wirus myksomatozy 1—3 mm po 5—6 dn. od zakażenia; wirus fibromatozy 1—,5 mm po 6—7 dn). Bardzo interesujące są wyniki doświadczeń Takehary i Schwerdta (35). Wykazali oni, że obydwie wirusy replikują się w cytoplazmie zakażonych komórek jako tzw. SVP (subviral particles) o wymiarach 50 mμ (wielkość genu u poxvirusów wynosi $75 \times 100 \times 200$ mμ). Cząsteczki te są niewrażliwe na działanie DNA-zy (wirus dojrzały jest wrażliwy na działanie enzymu). Cząsteczki SVP posiadają jednak zdolność namnażania i produkcji łyseinek w HK, a także właściwości patogenne (infekcyjność) dla królików.

Diagnostyka myksomatozy. Rozpoznanie choroby na podstawie objawów klinicznych na ogół nie napotyka na większe

trudności. Piśmiennictwo krajowe zawiera dokładne opisy objawów chorobowych (m. in. 26, 32, 33, 36, 37). Jednak z uwagi na to, że w krajach, w których myksomatoza występuje od szeregu lat, obserwowano pewne zmiany w przebiegu choroby, oraz z uwagi na konieczność potwierdzenia, w niektórych przypadkach, diagnozy klinicznej metodami laboratoryjnymi, zostaną wymienione wirusologiczne i serologiczne metody rozpoznawcze.

Obecność wirusa może być wykazana próbą biologiczną na królikach. Badanie wykonuje się wprowadzając materiał pobrany niejałowo do worka spojówkowego lub też skaryfikując skórę. W przypadku użycia narządów wewnętrznych, lub guzów skóry, materiał można wprowadzić poza tym śród- lub podskórną, lub dojądrowo. Odpowiednio przygotowany materiał może być także wysiewany na HK nerek lub serca królików, ewentualnie na błony kosmówkowo-omoczniove 10—11 dniowych zarodków kurzych. Badanie serologiczne obejmuje metody seroneutralizacji, precypitacji w żelu, oraz OWD (4, 15, 22, 23, 24). U królików, które przechorwały, przeciwciała precypitujące i wiążące dopełniacz utrzymują się w odróżnieniu od innych jednostek chorobowych o etiologii wirusowej, przez stosunkowo długi okres czasu. Wg Fenera (4) miano OWD surowic ozdrowieńców wynosi 1:640—1:5120; po upływie 5 miesięcy opada do 1:80—1:160 i utrzymuje się na tym poziomie przez kilka dalszych miesięcy. Metodą OWD i precypitacji w żelu można również wykazać w tkankach zwierząt padłych obecność antygeny (wirusa). Ostatnio w badaniach diagnostycznych zaczęto stosować również odczyn IF/34.

Zwalczanie myksomatozy. Obecnie są stosowane 2 metody: wybijanie zwierząt w ogniskach występowania choroby, oraz szczypania zapobiegawcze.

Metoda wybijania i profilaktyka bierna (odkazywanie, zabezpieczanie klatek przed dostępem owadów gęstymi siatkami itp.) jest stosowana w niektórych krajach, w tym również w Polsce. Jednak w krajach, gdzie choroba jest znacznie rozprzestrzeniona zwalczanie jest oparte głównie na profilaktyce czynnej, tj. szczepieniach zapobiegawczych. Szczepionki p. myksomatozie zawierają wirus fibromatozy lub atenuowany wirus myksomatozy.

Szczepionki z wirusa fibromatozy są od szeregu lat stosowane m. in. we Francji, w Niemczech i w Czechosłowacji. Ostatnio podjęto próby szczepień tą metodą w Polsce (32).

Wirus szczepionkowy jest namnażany na zarodkach kurzych lub na HK fibroblastów zarodka kurzego, lub na HK nerek królika. Szczepienia zapobiegawcze zapewniają odporność u 40 (Kerk cyt. wg 19) do 90% (1, 29, 30). Szczepienia wykonane przez Steffenową (32) w Polsce dały odporność u ok. 38% królików. Autorka stosowała preparat produkcji Instytutu Pa-

steura w Paryżu p. n. Myxowrac). Dość różne są poglądy odnośnie czasu powstawania odporności i jej trwania. Niektórzy autorzy (cyt. wg 19) podają, że odporność występuje już po 48—96 godz., inni, że dopiero po 12 dniach, okres utrzymywania się odporności jest określony w granicach 5—9 miesięcy.

Obecnie największe nadzieje są łączone z uzyskaniem dostatecznie osłabionej, żywej szczepionki atenuowanej z wirusa myksomatozy. Mc Kercher i Saito (25) donieśli, że adaptowany przez nich do HK nerki królika — szczep MSD, może być użyty jako szczepionka. Wg tych autorów atenuowany szczep MSD charakteryzuje się dobrym namnażaniem w HK nerki królika, gdzie wywołuje wyraźny efekt cytopatyczny, oraz brakiem właściwości patogennych dla królików. Badania kontrolne wykonane przez Jacotot i wsp. (15) potwierdziły w znacznej mierze te wyniki. Jednak wg badaczy francuskich (14, 15) szczep MSD nie jest jeszcze dostatecznie osłabiony, ponieważ po 1 pasażu przez króliki, drogą szczepień podskórnych lub dojadrowych, stwierdzono rewersję do formy zjadliwej. Pomimo tego jednak autorzy Ci sądzą, że żywa szczepionka może być stosowana, gdyż króliki kontrolne, przebywające razem ze szczepionymi nie zapadają na myksomatozę. Ponadto nie obserwowano powikłań i transmisji wirusa na potomstwo u szczepionych samic ciężarnych. Na uwagę zasługuje spostrzeżenie Jacotot i wsp. (15) — dotyczące oceny odporności u szczepionych zwierząt. Autorzy wykazali odporność na zakażenie u królików szczepionych

szczepem MSD — pomimo braku w niektórych surowicach przeciwciał neutralizujących, wiążących komplement lub precypitujących. W związku z tym, sądzą oni, że testy serologiczne nie są przy ocenie stopnia odporności przeciw myksomatozie przydatne, a uzyskana odporność ma charakter komórkowy. Obserwacje te popierają hipotezę Joklika (16) — że brak otoczki genomu u poxvirusów, może mieć wpływ na ograniczenie roli odporności humoralnej p-ko tym wirusom.

W warunkach krajowych, biorąc pod uwagę obecny stan zagrożenia myksomatozą, należy zwrócić uwagę na potrzebę skutecznej kontroli sanitarno-weterynaryjnej nad skupem królików, oraz uznać jako aktualną i pilną sprawę opracowania odpowiedniej szczepionki krajowej.

Rozwój sytuacji epizootycznej zdecyduje o celowości produkcji preparatu. Należy zaznaczyć, że przewidywane koszty produkcji szczepionki p. myksomatozie na hodowli komórek kształtowałyby się stosunkowo nisko z uwagi na możliwości rozcieńczenia szczepionki natywnej ok. 100 razy (tj. z około $10^{5.5}$ do $10^{3.5}$ HKID₅₀). Trwałość preparatu dałoby się uzyskać stosując liofilizację. Preparat byłby przewidziany do szczepień w rejonach enzootycznego występowania choroby.

Składam serdeczne podziękowanie Panu Profesorowi dr Tadeuszowi Jastrzębskiemu za udzielenie cennych wskazówek przy opracowywaniu niniejszego zagadnienia.

Adres autora: dr Jerzy Górski, Puławy, Michałowka 9/3.

ANTONI SPRYSZAK, JÓZEF ROMANIUK

Badania tuberkulinowe krów gruźliczych powtarzane w różnych okresach ciąży

Pracownia Immunologii Gruźlicy Instytutu Weterynarii
w Puławach
Kierownik: prof. dr A. SPRYSZAK

Zakład Fizjologii i Patologii Rozrodu Instytutu Weterynarii
w Puławach
Kierownik: prof. dr L. JAŚKOWSKI

Liczni autorzy zwracają uwagę na wpływ niektórych stanów fizjologicznych, a w szczególności ciąży, na wyniki tuberkulinizacji krów. Götze (cyt. za 1) podkreśla, że wysoka ciąża, poród i połóg mogą nieswoiście uwrażliwiać krowy na tuberkulinę. Andres (1) obserwował w przypadkach pierwszej i drugiej ciąży odczyny dodatnie u zwierząt z całą pewnością wolnych od gruźlicy. Schultz (wg 1) zauważył, że u tuberkulinododatnich krów gruźliczych w okresie wysokiej ciąży aż do okresu połogowego odczyn tuberkulinowy był wątpliwy, a w jednym przypadku ujemny; następne badania wykonane po 3 tygodniach, dawały wyniki dodatnie.

Własne obserwacje przeprowadzono na 89 krowach gruźliczych w trzech różnych gospodarstwach (grupy: I, II, III).

I. 34 krowy zacielone były tuberkulinizowane pięciokrotnie w odstępach 7—9-tygodniowych. Krowy były w różnych okresach ciąży; w czasie pierwszej tuberkulinizacji były 221—121 dni przed wycieleniem i wszystkie reagowały dodatnio na tuberkulinę. Siędem krów było w pierwszej ciąży, pozostałe zaś były wieloródkami. W dniu trzeciej tuberkulinizacji jedna krowa wycieliła się, a 33 były 98—10 dni przed porodem. W dniu czwartej tuberkulinizacji 16 krów było już po porodzie 1—41 dni, dwie krowy wycieliły się, a 16 krów było 53—2 dni przed porodem. W dniu piątej (ostatniej) tuberkulinizacji wszystkie krowy były po wycieleniu 13—107 dni.

II. 22 krowy niezacielone stanowiły grupę kontrolną. Poddano je 5-krotnej tuberkulinizacji w odstępach 8-tygodniowych.

III. 33 krowy zacielone były tuberkulinizowane 2-krotnie w odstępach co najmniej 6-miesięcznych. W dniu pierwszej tuberkulinizacji krowy były w okresie pierwszej połowy ciąży, 233—147 dni przed porodem; wszystkie reagowały na tuberkulinę odczynami dodatnimi. Trzy krowy były w pierwszej ciąży, trzy — w