

# CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

TADEUSZ SOBIECH, ROMAN BOCHDALEK, KAZIMIERZ ŁOSIECZKA

## Wirusowe zapalenie żołądka i jelit u świń (TGE) oraz próby jego rozpoznawania przy zastosowaniu metody immunofluorescencji.

### I. Badania własne

Instytut Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynarii WSR we Wrocławiu  
Dyrektor: prof. dr T. SOBIECH

Zakaźne wirusowe zapalenie żołądka i jelit u świń — *Gastroenteritis infectiosa suum* — Transmissible gastroenteritis (TGE) jest schorzeniem ostrym, przeważnie prosiąt oseków, charakteryzujących się wymiotami, biegunką i odwodnieniem ustroju. Zachorowania wśród zwierząt starszych występują rzadziej. Pierwszy opis choroby podał Hurt (cyt. za 3) w 1935 r. Dokładniejsze jednak dane dotyczące tej choroby zostały przedstawione w 1946 r. na terenie Stanów Zjednoczonych przez Doyle'a i Hutchingsa (cyt. za 4). W Polsce występowanie TGE notowane jest od 1959 r., a opis schorzenia został podany w 1961 r. przez Janowskiego i Gołaszewskiego (1). Czynnikiem etiologicznym choroby jest wirus mający szczególne powinowactwo do nabłonka przewodu pokarmowego i narządu oddechowego przy czym chorobotwórczy jest on wyłącznie dla świń.

Z uwagi na to, że objawy kliniczne choroby mogą jedynie nasuwać podejrzenie TGE, a zmiany anatomo-patologiczne nie mają również decydującego znaczenia rozpoznawczego postanowiono przeprowadzić badania immunofluorescencyjne (IF), które mogłyby przyczynić się do prawidłowego i szybkiego rozpoznania choroby.

#### Badania własne

Dnia 29.I.1971 r. dostarczono do Kliniki Chorób Zakaźnych Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych WSR we Wrocławiu 5 prosiąt w wieku 10 dni z gospodarstwa L, pow. Z. w celu przeprowadzenia badań diagnostycznych mających na celu ustalenie przyczyny zachorowań na terenie chlewni. Droga wywiadu ustalono, że dostarczone prosięta pochodziły z chlewni, w której od 23.I. zaobserwowano u świń utratę apetytu, posmutnienie, biegunkę, u niektórych zwierząt wymioty, a u maciór karmiących bezmleczność. Ciepłota wewnętrzna zasadniczo nie odbiegała od normy. Powyższe objawy wystąpiły wśród znacznej części pogłowia chlewni: u prosiąt — oseków, warchlaków, maciór i knurów i do dnia 28.I. objęły całe stado z wyjątkiem 10 maciór, które dnia 18.I. wstawiono do chlewni z gospodarstwa D na terenie woj. łódzkiego. Maciory te jak się później okazało przez cały czas trwania enzootii pozostały zdrowe. Stan chlewni łącznie wynosił 760 sztuk, w tym: 118 maciór, 6 knurów, 252 warchlaki i 384 prosięta. Knury i maciory, z wyjątkiem 10 sztuk sprowadzonych w styczniu do chlewni, pochodziły z własnego chowu. Stan higieniczno-sanitarny chlewni nie budził zastrzeżeń.

W żywieniu maciory otrzymywały mieszankę M-Bek, otręby pszenne, plewy lniane; knury susz ziemniaczany i śrutę owsianą; warchlaki mieszankę M-Bek, mieszankę P, susz ziemniaczany i mleko chude natomiast prosięta, mieszankę P i mleko pełne. Przed wystąpieniem wymienionych objawów chorobowych w ostatnim okresie czasu nie notowano w chlewni chorób zakaźnych. Prosięta — osekki w wieku do 2 tyg. padały w ciągu 24 godzin, starsze po 2—3 dniach wracały do zdrowia. Ogółem w okresie od 23.I. do 28.I.1971 r. padło 75 prosiąt (19,5%). Sekcyjnie u padłych prosiąt stwierdzono: nieżyt błony śluzowej żołądka i jelit oraz obecność w jelitach dużych ilości gazów, masy serowatej i wodnistego biało-żółtego płynu.

U prosiąt dostarczonych do Kliniki w przeprowadzonych badaniach (klinicznych, sekcyjnych, bakteriologicznych i immunofluorescencyjnych) stwierdzono, co następuje:

1. Badanie kliniczne — stan odżywienia i utrzymania zwierząt średni, brak apetytu, silna cuchnąca biegunka, osłabienie, postępujące wychudzenie oraz drżenia włókienkowe mięśni. Temperatura wewnętrzna, ilość tętna i oddechów w normie.

2. Badania sekcyjne — u padłych i uśpionych prosiąt stwierdzono: silne przekrwawienie i rozpulchnienie błony śluzowej żołądka, jelita czczego, biodrowego i jelit grubych; przekrwienie i zwyrodnienie mięszone wątroby. Śledziona u jednych prosiąt miernie, u innych wyraźnie obrzękła, wybroczyły w warstwie rdzennej nerek (prosiąt nr 2), ogniska zapalenia nieżyłowego w płatach sercowych i szczytowych płuc prosięcia nr 3 i 5.

3. Badania mikrobiologiczne — z posiewów wymazów z jelit (przyżyciowo) oraz z posiewów narządów wewnętrznych i jelit prosiąt (pośmiertnie) wyizolowano szczepy *E. coli* i *Pasteurella haemolytica* wykazujące w antybiotykoGramie największą wrażliwość na streptomycynę (++) i chloromycetynę (+++); ponadto *Pasteurella haemolytica* wykazywała wrażliwość na penicylinę (++).

4. Badanie immunofluorescencyjne wg metody Pospisila i wsp. (2) w modyfikacji własnej —

a) przygotowanie preparatów: bezpośrednio po przeprowadzeniu sekcji prosiąt padłych i uśpionych pobierano 0,5 cm długości wycinki z różnych odcinków jelit (czcze, biodrowe) i utrwalano przez 24 godz. w chłodnym acetonie (+4°C), oraz następnie płukano

w 2 zmianach acetonu i przetrzymywano w 2 zmianach benzenu po 20 min. w temperaturze pokojowej. Z kolei wycinki przesycano w parafinie niskotopliwej (2-krotnie zmienianej) po 25 min. w każdej temperaturze 56°C i zatapiano w wysokotopliwej parafinie. Błoczki przechowywano w lodówce. Skrawki mikrotomowe grubości 4—5 mikronów nalepiano na szkiełka bez gliceryny-białka i po zaschnięciu po 2—3 godzinach odparafinowywano w ksylenie 2 razy po 2 min., a następnie przenoszono przez alkohole: 96% — 2 min. i 70% — 1 min. Z kolei skrawki przenoszono na 2 min. do buforowanego płynu fizjologicznego o pH 7,1 (8,5 g NaCl; 1,1 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> bezwodny; 0,4 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> × 2H<sub>2</sub>O do 1 litra wody destylowanej). Następnie preparaty umieszczano w komorze wilgotnej nawarstwiano koniugatem i trzymano przez 30 min. w temperaturze 37°C. Przez dalsze 30 min. preparaty przemywano w buforowanym płynie fizjologicznym o pH 7,1 zmienianym 4-krotnie, celem wypłukania niezwiązanego koniugatu. Następnie skrawki nakrywano szkiełkiem nakrywkowym po uprzednim powleczeniu ich buforowaną gliceryną (9 część gliceryny + 1 część buforowanego płynu fizjologicznego). Tak przygotowane preparaty oglądano w mikroskopie luminescencyjnym ML-2.

b) Materiał:

1. Koniugat dodatni: jako koniugatem dodatnim posługiwano się swoistą globuliną wysalaną siarczanem amonu z surowicy krwi świń uodpornionych wirusem TGE chemicznie związaną z izotiocyjanianem fluoresceiny (FITC) i przechowywaną w stanie liofilizowanym produkcji „Bioveta”-Ivanovice na Hané (CSSR). Koniugat przed użyciem rozpuszczano w wodzie destylowanej (1 ml), a następnie poddawano wysycaniu przez 30 min. na 50—100 mg proszku wątrobowego. Następnie koniugat odwirowywano, rozcieńczano buforowanym płynem fizjologicznym w stosunku 1:2.

2. Koniugat ujemny: jako koniugat ujemny również w stanie liofilizowanym produkcji „Bioveta” (CSSR) stosowano ujemną immunologicznie surowicę.

c) Kontrola: swoistość fluorescencji sprawdzano przez:

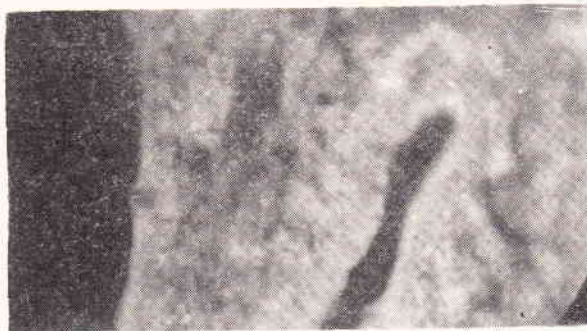
- 1) nawarstwienie ujemnego koniugatu na dodatni preparat,
- 2) nawarstwienie dodatniego koniugatu na ujemny preparat (skrawki jelit zdrowego prosięcia).

W tych przypadkach nie jest stwierdzana swoista fluorescencja.

Metodą bezpośredniej immunofluorescencji wykryto w preparatach z jelit czczych i biodrowych u 3 prosiąt na 5 badanych obecność antygeny wirusa TGE. Stwierdzono fluorescencję komórek nabłonka jelitowego. W cytoplazmie tych komórek obserwowano jasną żółtozieloną fluorescencję (ryc. 1). U prosięcia zdrowego zjawiska tego nie obserwowano (ryc. 2).



Ryc. 1. Dodatnio fluorozujące komórki nabłonka jelita prosięcia dotkniętego wirusowym zapaleniem żołądka i jelit (TGE). Powiększenie mikroskopowe 40 × 3.



Ryc. 2. Ujemna fluorescencja komórek nabłonka jelita prosięcia zdrowego. Powiększenie mikroskopowe 40 × 3.

Na podstawie całokształtu badań epizootiologicznych, klinicznych, sekcyjnych, a w szczególności immunofluorescencyjnych można wnioskować, że przyczyną zachorowań świń w chlewni gospodarstwa L było TGE. Przeprowadzone badania wykluczyły dyzenterię, salmonelozę i pomór świń. W leczeniu prosiąt i warchlaków podawano Polzomycynę, Streptomycynę, Endofuran; u macior karmiących Oxyvet — preparaty działające na drobnoustroje wtórnie wikłające proces chorobowy. Przy ich stosowaniu nie otrzymano jednak pozytywnych rezultatów. Prosięta — oseski w wieku do 2 tyg. padały. Prosięta zaś starsze, które przetrwały po 2—3 dniach choroby wykazywały objawy odwodnienia organizmu, bladeść błon śluzowych. Prosięta te jak i warchlaki po zastosowaniu Suiferrovitu i sulfonamidów powracały do zdrowia. Na upadki wśród warchlaków niewątpliwie miała również wpływ panująca w chlewni tzw. grypa. Maciory prośne, które przechorowały rodziły później zdrowe prawidłowo rozwijające się prosięta. Ogółem na terenie chlewni w trakcie enzootii TGE padło 75 prosiąt (19,5%) i 15 warchlaków (5,9%) — łącznie 90 sztuk.

Piśmiennictwo

1. Janowski H., Golaszewski H.: *Medycyna Wet.* 16, 281, 1961.
  2. Pospíšil Z., Mesároš E., Stepanek J.: *Vet. Med. Praga* 14, 351, 1969.
  3. Wawrzkiwicz J.: *Medycyna Wet.* 27, 3, 1971.
  4. Young G. A., Underdahl M. R., Hinz R. W.: *Cornell Vet.* 43, 561, 1953.
- Adres autora: prof. dr Tadeusz Sobiech, Wrocław, ul. Norwida 19/4.

Собех Т., Бохдалек Р., Лосечка К. — **Вирусный гастроэнтерит (ТГЕ) и попытки его диагноза при помощи метода иммунофлуоресценции. I. Собственные исследования.**

Провели комплексные диагностические исследования (эпизоотологические, клинические, анатомо-патологические, микробиологические и по методу иммунофлуоресценции) у поросят подозреваемых на ТГЕ. Установили большую эффективность метода иммунофлуоресценции в диагностике этой болезни.

Sobiech T., Bochdalek R., Losieczka K. — **Transmissible gastroenteritis (TGE) and attempts of its diagnosis by means of immunofluorescence. I. Own investigations.**

There were carried out full diagnostic examinations, e.g. epizootiological, clinical, anatomopathological, microbiological ones and immunofluorescence against transmissible gastroenteritis (TGE) in piglets. There was found out a great usefulness of immunofluorescent test in the diagnosis of the disease.