

JAN BUCZEK, GRAŻYNA WRZOŁEK-ŁOBOCKA

Izolacja adenowirusa od cieląt z objawami zapalenia płuc

Z Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego AR w Lublinie

Jak wynika z dostępnego piśmiennictwa (7, 8) dotychczas zidentyfikowano w świecie 8 typów serologicznych adenowirusów bydła, które zostały uznane przez Międzynarodowy Komitet Taksonomii Wirusów (JCTV) (7). Wg informacji Barthy (2) szereg autorów zgłosiło nowe serotypy (oznaczone nr 9, 10, 11, 12), które nie zostały jeszcze oficjalnie uznane przez JCTV. Publikacje dotyczące zakażeń adenowirusowych bydła mają zatem duże znaczenie teoretyczne i praktyczne, a zagadnienie to można uznać za otwarte.

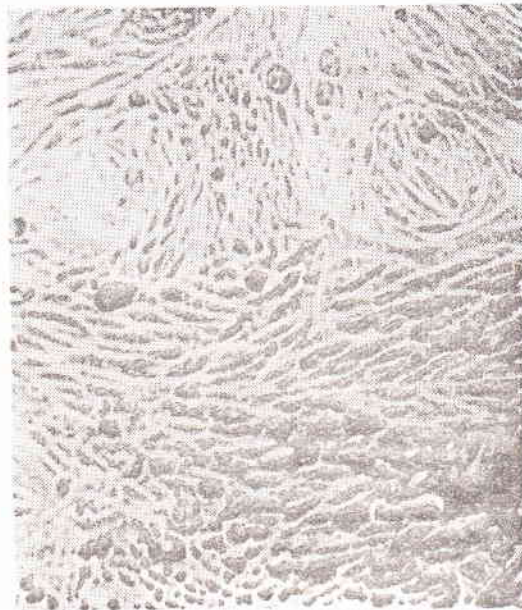
W Polsce badania wirusologiczne nad izolacją wirusów od bydła prowadzone są w kilku ośrodkach (1, 3, 4, 5, 9, 10), jednak dotychczas brak jest doniesienia o wyisobnieniu adenowirusów. Niniejsza praca stanowi zatem przyczynek do poznania zakażeń adenowirusowych bydła. Izolowany po raz pierwszy w Polsce od cieląt adenowirus to nie tylko potwierdzenie wcześniejszych badań serologicznych autorów (6), ale cenny materiał do dalszych prac badawczych.

Materiał i metody

Badania prowadzono na pierwotnych hodowlach komórek nerek cieląt (HKNC), przygotowywanych wg ogólnie stosowanych metod. Podłoże wzrostowe stanowił płyn Hanksa + 10% surowicy cieląt, podłoże utrzymujące płyn Parkera lub Eagla.

Przedmiotem badań były wymazy z nosa cieląt chorych z objawami zapalenia narządu oddechowego. Wymazy pobierano jałowymi wacikami i natychmiast przenoszono do płynu Hanksa z dodatkiem penicyliny (1000 j/ml) i streptomycyny (1000 µg/ml). Pobrany materiał zamrażano w suchym lodzie i trzymano w zamrożeniu (-20°C) aż do posiewu na HKNC. Materiałem pochodzącym od jednego zwierzęcia zakażano co najmniej 8 próbek HKNC. Zakażone hodowle inkubowano w +37°C i oglądano codziennie pod małym powiększeniem mikroskopu (80X), śledząc rozwój zmian w zakażonej hodowli. Część zakażonych HKNC badano odczynem hemadsorpcji.

Hodowle komórek zakażone tym samym materiałem, a nie wykazujące zmian CP w pierwszym pasażu, łączono i dwukrotnie pasażowano. Hodowle, w których wystąpił efekt CP, poddawano podstawowym badaniom fizyko-chemicznym, zmierzającym do identyfikacji izolowanego czynnika. Wykonano również badania w mikroskopie elektronowym w celu identyfikacji wiriona.



Ryc. 1. Hodowla komórek nerek cieląt — kontrola

Wyniki i omówienie

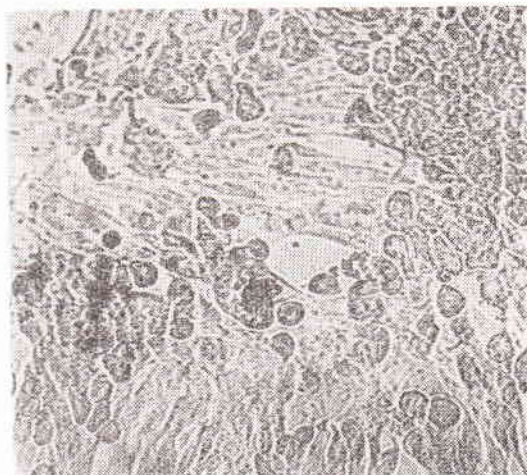
Wirus izolowano od jednego z grupy 50 cieląt wykazujących objawy zapalenia narządu oddechowego. Jak wynikało z wywiadu cielęta pochodziły z zakupu i zostały wstawione do wspólnego pomieszczenia. Pierwsze objawy choroby (kaszel, wycieki z nosa) pojawiły się po kilku

Tab. 1. Właściwości fizyko-chemiczne adenowirusa cieląt

Szczep	Kontrola	IUDR 100 µg/1ml	Eter 20% 4 ^o 4 h	CHCl ₃ 10% 4 ^o 1 h	56°C	MgCl ₂	Kontrola	Filtr 450 nm	Filtr 220 nm	Filtr 50 nm	pH 7	pH 3	Zdolność wiązania dopeł.
Izolowany adenowirus cieląt	2,50	0,50	2,50	2,50	—	—	3,77	3,50	3,38	—	3,50	>3,50	++++
IBR (K)	5,50	3,50											
Ad 5 (K)	1,50												

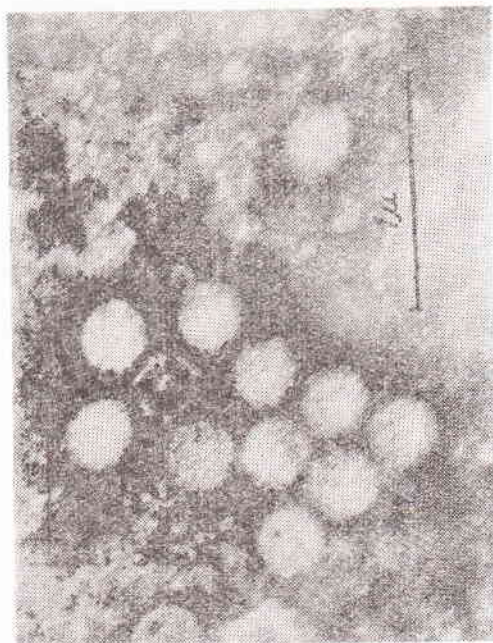
Objaśnienia: — = brak zmian; stężenie log₁₀ TCID₅₀/0,1 ml; (K) = szczep kontrolny.

dniach od wprowadzenia cieląt. W chwili pobierania materiału, w grupie tej zanotowano już 5 przypadków zejść śmiertelnych. Wg informacji podanych przez lekarza weterynarii, sprawującego opiekę nad gospodarstwem, przyczyną zejścia było w każdym przypadku zapalenie płuc. Materiał tj. wymazy z nosa, pobrano od cieląt, u których objawy kliniczne wskazywały na ostry proces chorobowy, a wypływ z nosa miał charakter surowiczno-śluzowy.



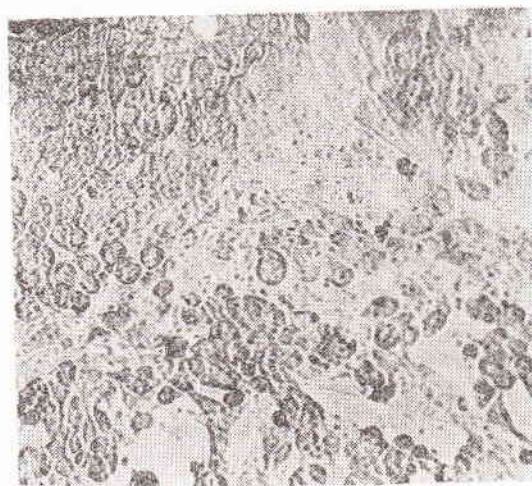
Ryc. 2. Zmiany CP wywołane przez adenowirus cieląt — 24 godz. po zakażeniu hodowli

Na HKNC zmiany cytopatyczne (CP) pojawiły się tylko w 1 przypadku na 10 badanych prób. W pierwszym pasażu były one bardzo słabo wyrażone i ograniczały się do zaostrenia konturów i zaokrąglenia pewnego procentu komórek. Zmiany te utrzymywały się przez kilka dni, nie wykazując tendencji do rozprzestrzeniania. Po-



Ryc. 4. Wygląd wirionów adenowirusa cieląt pow. 32 000×

dobne, chociaż wyraźniejsze zmiany wystąpiły w drugim pasażu. W następnych pasażach (3—8) zmiany CP pojawiły się regularnie na 3—4 dzień, jednak w dalszym ciągu dotyczyły tylko niewielkiego procentu komórek, u których jak w pasażu pierwszym obserwowano zaostrenie kształtów, a następnie coraz silniejsze i pojawiające się w większej ilości zaokrąglenia. Dopiero w 9-tym pasażu efekt CP objął 75% komórek, u których nastąpiło zaokrąglenie kształtów, skupienie w grona, bez tendencji do tworzenia sencytiów.

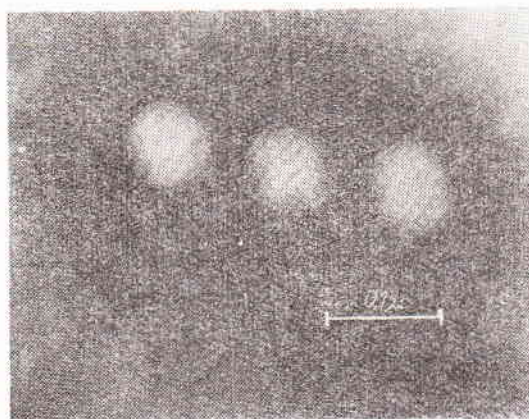


Ryc. 3. Zmiany CP wywołane przez adenowirus cieląt — 36 godz. po zakażeniu hodowli

W następnych pasażach efekt CP był bardzo wyraźny, jednak część komórek nie wykazywała zmian. Wygląd zmian CP w 10-tym pasażu w 24, 36 godzin po zakażeniu ilustrują ryc. 2 i 3. Wyniki podstawowych badań fizyko-chemicznych przedstawiono w tab. 1.

Uzyskane wyniki fizyko-chemiczne wskazują, że izolowany zarazek spełnia podstawowe kryteria dla wirusa z rodziny *Adenoviridae*.

Badania w mikroskopie elektronowym materiału zagęszczonego metodą ultrawirowania i barwionego negatywnie, pozwoliły na uwidocznienie wirionów (ryc. 4, 5). Pod powiększeniem 1:32 000 (ryc. 4) widać wyraźnie wiriony



Ryc. 5. Wygląd wirionów adenowirusa cieląt pow. 180 000 ×

o planie dwudziestościanu. Pod powiększeniem 180 000 (ryc. 5) widoczny jest charakterystyczny dla adenowirusów układ kapsomerów, których liczba wynosi 252. Badania mikroskopowe są zatem bezpośrednim dowodem prawidłowej klasyfikacji zarazka.

Badania metodą OWD surowic odpornościowych wyprodukowanych na królikach przy użyciu wyizolowanego szczepu wykazały, że adenowirus wiąże dopełniacz.

Porównawcze badania serologiczne, których celem będzie określenie serotypu zostaną przeprowadzone po uzyskaniu odpowiednich surowic i szczepów adenowirusów bydła.

Wnioski

1. Badania przeprowadzone na HKNC pozwoliły na izolację wirusa od cieląt, wykazujących objawy zapalenia układu oddechowego.

2. Na podstawie badań fizyko-chemicznych oraz badania w mikroskopie elektronowym izolowany wirus sklasyfikowano do rodziny *Adenoviridae*.

3. Izolowany adenowirus posiada zdolność wiązania dopełniacza.

Piśmiennictwo

1. Baczyński Z., Cakala St., Skullmowska-Kryszkowska D., Szymanderska H.: Bull. Vet. Inst. Puławy 19, 69, 1975.
2. Bartha A.: Informacja osobista 1977.
3. Buczek J.: Pol. Arch. wet. 13, 2, 1970.
4. Buczek J., Jastrzębski T.: Medycyna Wet. 21, 725, 1965.

5. Buczek J., Jastrzębski T., Zbikowska K.: Medycyna Wet. 30, 31, 1974.
6. Buczek J., Wrzolek G., Ziółkowska G.: Medycyna Wet. 29, 582, 1973.
7. Fenner F.: Intervirology 7, 19, 1976.
8. Norrby E., Bartha A., Boulanger P., Dreizin R. S., Ginsberg H. S., Kaitler S. S., Kuwamura H., Rowe W. P., Russel W. C., Schelesinger R. W., Wigand R.: *Adenoviridae*, *Intervirology* 7, 117, 1976.
9. Kita J.: Medycyna Wet. 26, 198, 1970.
10. Zebrowski L., Baczyński Z.: Bull. Vet. Inst. Puławy, 14, 72, 1970.

Adres autora: doc. dr habil. Jan Buczek, ul. Dr Choźski 31 M, Lublin.

Бучек Я., Вжолек-Лобочкая Г. — **Изоляция аденовируса от телят с симптомами воспаления легких.**

Вирусологические исследования мазков из носа больных телят с воспалительными симптомами дыхательного органа привели к изоляции вируса на культуре клеток почек телят. При помощи физико-химических исследований, а также в электронный микроскоп, показали, что изолированный вирус принадлежит к семейству *Adenoviridae*.

Исследования показали, что обладает он способностью связывания комплемента.

Серологическое сравнение с другими аденовирусами крупного рогатого скота будет предметом отдельной работы.

Buczek J., Wrzolek-Lobocka G. — **Isolation of adenovirus from calves with the symptoms of pneumonia.**

On the basis of virologic studies performed with a calf kidney cell culture there was isolated a virus from nasal swabs of sick calves with inflammatory symptoms of the respiratory tract. Physico-chemical studies and observations in an electronic microscope revealed that the isolated virus belonged to *Adenoviridae* family. The virus fixed complement. Serological comparisons of the newly isolated virus with other bovine adenoviruses will be published in a separate paper.

PAVELKA J., SEDLACEK O.: Skażenie arsenem importowanych ryb morskich i ich produktów. (Kontaminacja arsenem u doważonych morskich ryb a výrobku z nich). Vet. Med. (Praga) 21, 497—504, 1977 (8).

Skażenie morskich ryb arsenem w porównaniu z rybami słodkowodnymi jest stosunkowo bardzo wysokie. W wyniku przeprowadzonych badań pięciu gatunków ryb morskich (makrela, śledź, dorsz, tuńczyk, płastuga), które najczęściej spotykane są na rynku stwierdzono, że dopuszczalnej ilości arsenu (1 mg na 1 kg mięsa) odpowiadało tylko 24% makreli, 9,5% śledzi, 33,4% dorsza, 57% płastugi i 0,0% tuńczyka. Również tylko 15,8% filetów ze śledzi odpowiadało maksymalnym dopuszczalnym poziomom. Większość badanych próbek ryb mieściła się w zakresie wartości 1—2 mg arsenu na 1 kg mięsa (makrela — 32%, śledź — 63,5%, dorsz — 66,6%, tuńczyk — 43%, płastuga — 28%).

Autorzy podkreślają, że należy ustalić granicę dopuszczalnych stężeń arsenu w morskich rybach i ich przetworach, w celu odpowiedniej oceny sanitarnej i ochrony zdrowia człowieka.

d. i.

DAWSON C. O., WISEMAN A., PRIE H. M., BREEZE R. G.: Badania nad występowaniem i wysokością miana precypityn dla *Micropolyspora faeni* w surowicach bydła. (Studies on the incidence and titres of precipitating antibody to *Micropolyspora faeni* in sera from adult cattle). J. Comp. Path. 87, 287—299, 1977 (2).

W 16 stadach krów oznaczono występowanie i miano precypityn dla *Micropolyspora faeni* w okresie 2 lat. Badania wiosenne przeprowadzano w kwietniu lub maju, jesienne w listopadzie lub grudniu. W badaniach posługiwano się odczynem precypitacji dyfuzyjnej w żelu agarowym z dwoma antygenami *M. faeni*. Stwierdzono, że we wszystkich badanych stadach ilość zwierząt reagujących dodatnio oraz wysokość mian w od-

czynnie precypitacji spada jesienią tj. po 5—6 miesięcznym pobycie zwierząt na pastwiskach. Przyczyną ilości wzrostu zwierząt reagujących dodatnio w odczynie precypitacji, oraz narastanie mian na wiosnę można wiązać z ekspozycją zwierząt w oborze na alergeny *M. faeni*. Na ekspozycje zwierząt wpływa rodzaj stosowanej karmy, metody żywienia i rodzaj wentylacji. Autorzy zalecają eliminację z hodowli sztuk reagujących w odczynie precypitacji w wysokich mianach.

G.

WILLIAMS B. M.: Zapalenie mięśni u bydła na tle zakażenia klostridiami: Bakteriologia i anatomia patologiczna. (*Clostridial myositis in cattle: Bacteriology and gross pathology*). Vet. Rec. 100, 90—91, 1977 (5).

Badania bakteriologiczne padłych zwierząt i próbek tkanki mięśniowej ze 173 przypadków zapalenia mięśni u bydła wykazały, że w 56% przypadków izolowano *Clostridium chauvoei* lub *C. chauvoei* i *C. septicum*, w 36% *C. novyi* lub *C. novyi* i *C. septicum*. Jedyne w 11 przypadkach (6%) wyosobniono *C. septicum* i w 3 przypadkach *C. sordelli*. Mięśnie krów z których wyosobniono *C. chauvoei* lub *C. chauvoei* i *C. septicum* były kruche, trzeszczące przy ucisku i zawierały ogniska o konsystencji gumowatej i zapachu zjełzłego tłuszczu. Zmienione odcinki mięśni pokrywał jasnożółty płyn, który z czasem przyjmował zabarwienie krwiste. W przypadku zakażeń *C. novyi* lub *C. novyi* i *C. septicum* występowały galaretowate obrzęki tkanki podskórnej i międzymięśniowej tkanki łącznej. Nacieki początkowo jasne zmieniały swoje zabarwienie na krwisto-czerwone. U bydła zakażonego *C. septicum* krwiste obrzęki wypełniały pęcherzyki gazu. Mięśnie miały zabarwienie czarne. Przy zakażeniach *C. sordelli* występowały podobne zmiany jak przy zakażeniach *C. novyi* z tym, że obrzęki o kolorze ciemnoczerwonym wydzielały nieprzyjemną gnilną woń.

G.