

Яра З., Маркевич Ф. — Эпизоотиологический анализ аероциститиса в хозяйствах, выращивающих карпов, в Польше.

В 1962—63 гг. появилось в рыбохозяйствах юго-восточных воеводств Польши вирусное воспаление плавательного пузыря (аероциститис), распространяющейся главным образом в 1966—67 гг. на остальные воеводства. В период, охваченный анализом, т.е. в 1962—63 гг., в связи с суммарной экстенсивностью аероциститиса, выраженной величиной коэффициента

$$E = \frac{\sum_0^{1-13}}{13} \times 10, \text{ можно выделить в Польше 3 райо-}$$

на: южный с наивысшим, центральный с более низким и северный с самым низким коэффициентом E. На распространение и экстенсивность аероциститиса в Польше повлияли, по нашему мнению, главным образом переброски посадочного материала и нарушения равновесия физико-химических условий в водоемах (интенсификация рыбоводства и загрязнение вод).

Jara Z., Markiewicz F. — Epizootiologiczny analiz aerocystitis w farmach karpia w Polsce.

Aerocystitis appeared in fish farms first in the South-East regions of Poland in 1962/63, and then it spreaded mainly in 1966/67 on the country. In the whole analysed period e.g. 1962—1974, taking into consideration summary extensivity of the disease revealed by

$$E \text{ coefficient} = \frac{\sum_0^{1-13}}{13} \times 10, \text{ 10, Poland can be divided}$$

into three regions: the South region of the highest E coeff. value, the median of the lower E. coeff. value, and the North region of the lowest E coeff. value. The spread and extensiveness of aerocystitis was acc. to the authors influenced by shifts of fry materials and disturbances of the physico-chemical balance in water reservoirs (intensification of breeding and water pollutions).

STEFAN SAMÓL

Badania nad wykrywaniem zakażeń wirusem nosówki metodą przeciwciał fluoryzujących u psów

Z Zakładu Higieny Weterynaryjnej w Warszawie

W poprzednim doniesieniu (8) opisano badania nad wykrywaniem antygenu u tchórzofretek zakażonych dootrzewnowo i przez kontakt ze zwierzętami chorymi. Z doświadczenia tego wynika, że u tchórzofretek zakażonych przez kontakt z chorymi zwierzętami, choroba rozwijała się w przeciągu kilku dni. Przeciętny okres inkubacji u psów zakażonych naturalnie jest równie krótki i wynosi 3—5 dni, przy czym ogólne objawy choroby występują nagle (1). Praktycznie więc pies, z którym właściciel zgłasza się po poradę lekarską, znajduje się w fazie choroby, w której możliwość wykrycia antygenu nosówki w błonach śluzowych, względnie w krwi obwodowej jest realna. Wydaje się przeto, że istnieją warunki szybkiej diagnozy przyżyciowej, co ma zasadnicze znaczenie z punktu widzenia terapii, jak też zapobiegania chorobie. Niemniej ważne wydaje się również pośmiertne rozpoznanie choroby, ze względu na dużą analogię objawów postaci nerwowej nosówki z objawami występującymi w przebiegu klinicznym wścieklizny.

Do naszego Zakładu kierowany jest liczny materiał m. in. od zwierząt zabitych przez właścicieli, przy czym wywiad sugeruje wściekliznę i takie też jest ukierunkowanie badań. W przypadku ekspozycji człowieka, służba zdrowia zarządza szczepienia przeciw wściekliznowe poszkodowanego. Szybkie rozpoznanie choroby ma w tych przypadkach nie tylko znaczenie praktyczne, lecz także psychologiczne.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na materiale z 12 psów w wieku od 3—12 m-cy padłych, względnie zgłoszonych w wyniku niepomyślnego rokowania, u których przyżyciowo stwierdzono nosówkę. Badano tkanki — analogicznie jak u tchórzofretek (8). Do badań włączono ponadto: centralny układ nerwowy (CUN) i ślinianki podżuchwowe od 12 psów, których głowy nadesłano do badań w kierunku wścieklizny, a u których w CUN nie stwierdzono ciała Negriego ani też antygenu wścieklizny metodą przeciwciał fluoryzujących. Kontrolę stanowiły dwa psy w wieku 6 i 7 miesięcy, padłe w wyniku naturalnego zakażenia wścieklizną.

Przyżyciowo pobrano wymazy z błon śluzowych spojówek oka, pochwy względnie napletka oraz krew obwodową od 17 psów chorych z rozpoznaniem nosówki. Materiał z błon śluzowych pobierano przy pomocy tamponów z gazy względnie odpowiedniej łyżeczki kostnej. Krew z żyły dostopowej наносzono bezpośrednio na szkiełka podstawowe (z kropli krwi wykonywano rozmaz o średnicy 1 cm), względnie pobierano do probówki w ilości 1—2 ml. W tym przypadku rozmaz sporządzono po oddzieleniu się surowicy, z kropli surowicy pobranej bezpośrednio z osadu skrzepu.

Z tkanki nerwowej sporządzono preparaty odciskowe, z pozostałych tkanek — skrawki kriostatowe. Z każdej badanej tkanki sporządzano po 2 preparaty do badań immunofluorescencyjnych oraz dodatkowo 2 preparaty z mózgu, ślinianki, dna żołądka i pęcherza moczowego do badań histochemicznych w kierunku ciała wtrętowych. Z preparatów, w których immunofluorescencyjnie stwierdzono antygen w postaci dużych owalnych aglomeratów, zdejmowano szkiełka nakrywkowe, zanurzano w płynie fizjologicznym dla płukania gliceryny, a następnie barwiono wg metody Sellera. Poza tym przygotowanie preparatów i ich ocenę przeprowadzono analogicznie jak podano uprzednio i przy pomocy tych samych reagentów (8).

Wyniki

Spośród 12 psów, u których przyżyciowo rozpoznano nosówkę, w tkankach 11 wykazano antygen nosówki. Przyczyną śmierci jednego zwierzęcia, jak wykazały badania anatomo-patologiczne i bakteriologiczne, był obrzęk i guzkowate przerosty śledziony oraz ropne zapalenie płuc. U pozostałych psów we wszystkich badanych tkankach obserwowano duże masy antygeny, podobnie jak to miało miejsce u tchórzofretek padłych w wyniku zakażenia eksperymentalnego (8). Różnice dotyczyły CUN, żołądka i płuc.

W CUN szeroko rozsiany antygen obserwowano we wszystkich jego częściach, zwykle w większych ilościach aniżeli w innych narządach. W mózgu specyficzna fluorescencja występowała w cytoplazmie i jądrach neuronów kory mózgowej, w *corpus striatum* i różnych jądrach warstwy podstawowej.

W mózdku, antygen w postaci izolowanych skupisk obserwowano m. in. w substancji białej (ryc. 1) i szeregu innych, często bliżej niezidentyfikowanych, komórek. Podobnie jak u tchórzofretek antygen znajdowano również w cytoplazmie komórek śródbłonna naczyń krwionośnych.

W płucach poza antygenem występującym w tkankach nabłonkowych oskrzeli, śródmiąższowych komórkach żernych, swoistą fluorescencję stwierdzono w komórkach pęcherzyków płucnych i małych oskrzelików.

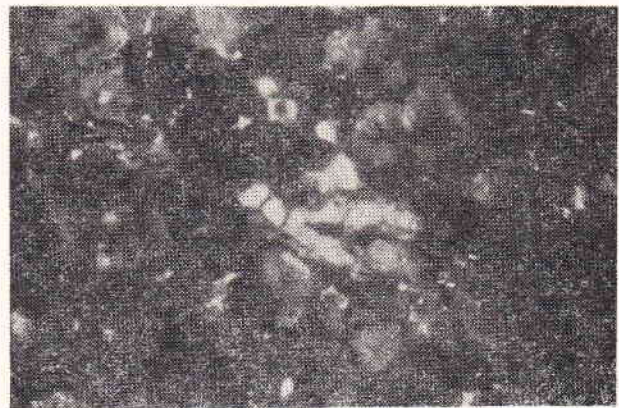
Masy antygeny o szczególnie silnej fluorescencji obserwowano w cytoplazmie i o mniejszym nasileniu w jądrach komórek błony śluzowej żołądka.

Pewne różnice w rozmieszczeniu antygeny w badanych narządach występowały zależnie od postaci nosówki. U badanych 3 psów, u których klinicyści stwierdzili postać żołądkowo-jelitową nosówki, masy antygeny w CUN i płucach były mniejsze aniżeli u pozostałych, u których rozpoznano postać nerwową.

We wszystkich badanych narządach stwierdzono ciała wtrętowe. U 2 psów padłych w wyniku naturalnego zakażenia wścieklizną (kontrola) stwierdzono ciała Negriego, a przy użyciu homologicznego konjugatu — antygen wścieklizny. W tkankach tych psów nie wykazano antygeny nosówki.



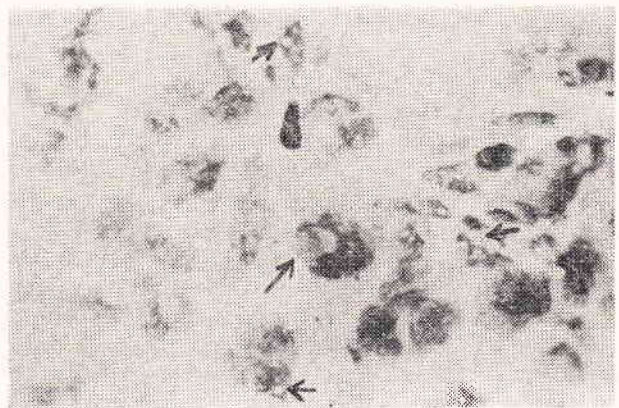
Ryc. 1. Fluorescencja antygeny nosówki w preparacie odciskowym z mózdzku psa. Widoczny antygen w postaci „mgławicy” (rozsiany w całej plazmie komórek u dołu), ziarnistych i większych owalnych obiektów fluoreszujących (pow. ok. 670X)



Ryc. 2. Fluorescencja antygeny nosówki w skrawku kriostatowym ślinianki podżuchwowej psa. Widoczne masy antygeny (w różnej formie) w plazmie, względnie w plazmie i jądrach komórek zrazikowych. (pow. ok. 670 X)

Tab. 1. Wyniki badań w kierunku wścieklizny (ukierunkowanie badań) i nosówki w CUN i śliniankach

Nr badania	Wiek psa	Wścieklizna CUN 1)		Nosowka			
		IF 2)	CN 2)	CUN 3)		Ślinianki	
				IF	CN 3)	IF	CN
R. 232 / 77	6 m-cy	- 6)	-	## 7)	nb 4)	##	nb
R. 241 / 77	3 m-ce	-	-	##	nb	##	nb
R. 248 / 77	7 m-cy	-	-	##	S 5)	##	S
R. 250 / 77	7 lat	-	-	-	-	-	-
R. 273 / 77	6 m-cy	-	-	##	S	+	-
R. 281 / 77	1 rok	-	-	##	S	##	S
R. 297 / 77	7 m-cy	-	-	##	S	##	S
R. 299 / 77	4 m-ce	-	-	##	S	##	S
R. 308 / 77	6 m-cy	-	-	##	S	##	S
R. 313 / 77	1 rok	-	-	##	S	##	S
R. 390 / 77	ok. 3 lat	-	-	##	S	##	S
R. 401 / 77	2 m-ce	-	-	##	S	##	S



Ryc. 3. Skrawek kriostatowy ślinianki podżuchwowej psa. Liczne różnej wielkości ciała wtrętowe nosówki (strzałki). Barwienie wg Sellera (pow. ok. 1430X)

Objaśnienia: 1) CUN = centralny układ nerwowy (badano: rogł Ammona, korę mózgową, mózdzek i rdzeń przedłużony); 2) CN = ciała Negriego; 3) CW = ciała wtrętowe; 4) nb = nie badano; 5) S = stwierdzono; 6) - = wynik ujemny; 7) IF = immunofluorescencja: + = małe; ++ = średnie; +++ = duże ilości antygeny.

Wyniki badań CUN i ślinianek 12 psów nadesłanych do badań w kierunku wścieklizny, z wywiadem sugerującym objawy kliniczne wścieklizny, przedstawiono w tab. 1. U wszystkich 12 psów badania w kierunku wścieklizny przeprowadzone zgodnie z obowiązującą instrukcją (5) dały wynik ujemny. W 11 przypadkach, w materiale z tych samych zwierząt, w preparatach z kory mózgowej, rogów Ammona, mózdzku i rdzenia przedłużonego oraz ze ślinianki (ryc. 2) — stwierdzono antygen nosówki. Ciałka wtrętowe wykazano we wszystkich preparatach z CUN i ślinianek (ryc. 3), za wyjątkiem preparatu ze śliniankami psa R. 273/77.

W wymazach z błon śluzowych spojówek oka i dróg rodnych, pobieranych przyżyciowo od psów z rozpoznaniem klinicznym nosówki, antygen obserwowano jedynie w nielicznych komórkach, najczęściej w cytoplazmie. Na 17 badanych psów antygen stwierdzono: u 2 psów tylko ze spojówki, u 5 ze spojówki i dróg rodnych, u 7 tylko z dróg rodnych, u 5 pozostałych wynik badania był ujemny zarówno z dróg rodnych jak i z błon śluzowych oka.

W krwi, w preparatach sporządzanych bezpośrednio ze świeżej kropli, antygen obserwowano w nielicznych komórkach jednojądrzastych (kilka komórek o specyficznej fluorescencji w kilku polach widzenia). W preparatach sporządzanych z surowicy obserwowano liczne komórki fluoryzujące w jednym polu widzenia. Antygen występował w postaci drobnych ziarnistości lub większych owalnych względnie półkulek aglomeratów, w cytoplazmie i nieco rzadziej w jądrze komórkowym. Niejednokrotnie owalne masy antygeny, leżące w bezpośredniej bliskości siebie, tworzyły fluoryzujący żółto-zielony pierścień wokół nie zawierającego antygeny — jądra, nadając tym komórkom charakterystyczny wygląd. W niektórych przypadkach obiekt świecący przedstawia jednolitą masę wypełniającą całą cytoplazmę. Ta sama komórka barwiona metodą Sellera i oglądana w mikroskopie świetlnym, dawała obraz czerwonego pierścienia, stanowiącego odpowiednik jednolitej specyficznej fluorescencji w plazmie limfocyta. Najczęściej widoczne były owalne i półkulekocształne ciała wtrętowe w plazmie i jądrach komórek.

Omówienie wyników

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że u psów padłych na skutek naturalnego zakażenia nosówką a także zgładzonych w związku z niepomyślnym rokowaniem, metodą przeciwciał fluoryzujących można wykryć antygen zarówno w CUN, narządach limfatycznych, w układzie oddechowym, pokarmowym i moczowym. Obserwowane masy antygeny we wszystkich częściach CUN przemawiają za przydatnością tkanki tego układu w badaniach rutynowych. Tkanka nerwowa ponadto ze względu na swoistą konsystencję jest dogodna do sporządzania preparatów odciskowych.

W przypadku nie otwierania czaszki, do badań laboratoryjnych pobrać można ślinianki podzuchwowe, w których antygen nosówki występuje zwykle w dużych ilościach. Wybór ślinianki podzuchwowej obok tkanki mózgowej, uzasadniony jest możliwością wykorzystania tego gruczołu (jeśli zajdzie potrzeba) do badań w kierunku wścieklizny (7). Również inne tkanki, zależnie od czasu trwania choroby a także jej postaci klinicznej — spełniać mogą rolę materiału diagnostycznego.

Z doświadczenia wynika, że w pierwszych dniach po zakażeniu wirusem nosówki, obser-

wowany antygen w tankach występuje początkowo w postaci drobnych cząsteczek tzw. „mgławicy”, a z czasem coraz liczniejszych ziarenek i dopiero z upływem dni powstają większe aglomeraty antygeny często o kształcie i wielkości eozynofilnych ciałek wtrętowych.

Ciała wtrętowe mogą występować w zakażeniu innymi wirusami (reowirusy). Kształt tych ciałek i ich lokalizacja jest podobna jak przy nosówce. Stwarza to możliwość błędnego rozpoznania. Metoda przeciwciał fluoryzujących daje natomiast wyniki swoiste, rozpoznanie jest możliwe we wczesnym stadium choroby a ponadto ocena preparatów immunofluorescencyjnych jest łatwiejsza. Z tych to m. in. względów w laboratoriach, które mają wdrożone metody immunofluorescencyjne, powinny one znaleźć zastosowanie również w diagnostyce rutynowej nosówki. Szczególne jej znaczenie uwidocznia się w laboratoriach upoważnionych do badań rabiologicznych. W przypadkach nie wykrycia wirusa wścieklizny w materiale skierowanym do badań w tym kierunku, stwierdzenie antygeny nosówki czyni pierwszy wynik bardziej wiarogodny, zwłaszcza w oczach służby zdrowia — decydującej o szczepieniach p. wściekliznowych podejrzanych o zakażenie osób.

W diagnostyce przyżyciowej, wykazanie antygeny jest możliwe w wymazach z błon śluzowych, jak też z krwi obwodowej. Z błon śluzowych chorych na nosówkę psów, antygen wykrywano częściej w wymazach z dróg rodnych. Wyniki te są zgodne z wynikami doświadczeń Fairchilda i wsp., przeprowadzonych na eksperymentalnie i naturalnie zakażonych psach (3, 4). Lepsze wyniki aniżeli z błon śluzowych otrzymano z krwi zwierząt chorych. Antygen nosówki wykryć można z pełnej krwi w niewielkiej ilości komórek jednojądrzastych (poniżej 1%) i dlatego wprowadzona w tym doświadczeniu metoda sporządzania rozmazu w laboratorium po oddzieleniu się surowicy zasługuje na uwagę. Koncentracja białych ciałek krwi bezpośrednio z nad skrzepu krwinek czerwonych pozwala na znaczne zagęszczenie obiektów fluoryzujących. Ułatwia to ocenę preparatów. Pobranie 1—2 ml krwi do próbki w ambulatorium jest ponadto łatwiejsze do sporządzania właściwego rozmazu na szkiełku podstawowym, które nie może dawać fluorescencji własnej.

W toku badań zwrócono uwagę na charakter ciałek wtrętowych. W badaniach porównawczych tych samych preparatów „barwionych” początkowo konjugatem nosówki, a następnie wg metody Sellera — celem wykazania ciałek wtrętowych stwierdzono, że ich kształt i umiejscowienie w poszczególnych komórkach odpowiada umiejscowieniu i kształtowi obiektów fluoryzujących, oglądanych w mikroskopie fluorescencyjnym. Sugeruje to, że ciała wtrętowe są niczym innym, jak masami cząsteczek wirusa nosówki. Szczególnie wymowne w tym

względnie są badania skrawków ślinianek podzuchwowych, w których stosunkowo łatwo można zidentyfikować te same komórki zrazika. W komórkach jednojądrzastych krwi w obrazie fluorescencyjnym często obserwuje się owalne cząstki antygeny ściśle przylegające do siebie, których masy wypełniają całą cytoplazmę i tworzą fluoryzujący żółto-zielony pierścień wokół nie zawierającego antygeny jądra. W sporadycznych przypadkach obiekt świecący stanowi jednolitą masę wypełniającą całą cytoplazmę. Ta sama komórka oglądana w mikroskopie świetlnym po zabarwieniu preparatu metodą Sellera przedstawia wygląd podobny, z tym że wybarwienie cytoplazmy jest czerwone. W tym przypadku, przez analogię do „ciałka”, należałoby użyć określenia „pierścień” wtrętowy. Obserwacje te przemawiają za antygenowym charakterem ciałek wtrętowych nosówki. W kwestii tej wyrażone są dotychczas różne poglądy (2, 6).

Tą drogą chciałbym wyrazić serdeczne podziękowanie dr Teresie Stępkowskiej-Richter z Zakładu Epizootologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR w Warszawie, dr Wojciechowi Gostewskiemu Kierownikowi PZLZ Warszawa-Ochota oraz dr Elżbiecie Dolindo-Dolindowskiej i dr Lidii Huszcz pracownikom Schroniska dla Bezdomnych Zwierząt w Warszawie za pomoc w uzyskaniu materiału biologicznego do niniejszej pracy.

Szczególnie serdecznie dziękuję p. Daniełi Dąbrowskiej za pomoc techniczną.

Piśmiennictwo

1. Bachman W.: Choroby psów i kotów, PWRIL 1962.
2. Coffin D. L., Liu Ch.: *Veterology* 3, 132, 1957.
3. Fairchild G. A., Wyman M., Dounovan E. F.: *Am. J. vet. Res.* 28, 761, 1967.
4. Fairchild G. A., Steinberg S. A., Cohen D.: *Cornell Vet.* 61, 214, 1971.
5. Instr. nr 27 Ministerstwa Rolnictwa — Departamentu Weterynarii z dnia 16.IV.1973 r. w sprawie laboratoryjnego rozpoznawania wścieklizny u zwierząt.
6. Maulton J. E., Brown C. H.: *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 86, 99, 1956.

HONDESHELL J. W., HENNESEY P. W.: Octan megestrolu w kontroli rui u kotów. (Megestrol acetate for control of estrus in the cat). *Vet. Med. small anim. Clin.* 72, 1013—1017, 1977 (6).

Octan megestrolu (Ovoban-Schering) cechuje się silnymi właściwościami antyestrogenicznymi przy stosowaniu doustnym. Badania kliniczne przeprowadzone na 126 kotkach wykazały, że objawy rui nie występują po doustnym podaniu Ovobanu w dawce 5 mg/dzień, przez trzy kolejne dni. Stan anestrus podtrzymywano przez okres 10 tygodni podając Ovoban 1 raz w tygodniu w dawce 2,5—5,0 mg. Typowe zachowanie dla okresu rui ustępowało u 41% kotów po 3 dniach po podaniu leku. U 74% zwierząt anestrus występował 5 dnia, u 92% pod koniec pierwszego tygodnia. Lek w formie tabletek lub dodatku do pożywienia był chętnie przyjmowany przez zwierzęta. Po zaprzestaniu leczenia objawy rui nie występowały przez okres 1—3 miesięcy.

G.

KENNEDY K. K., NORRIS S. J., BECKENHAUER W. H., HOGG A.: Szczepienie ciężarnych macior toksoidem *Clostridium perfringens* typ C. (Vaccination of pregnant sows with *Clostridium perfringens* type C toxoid). *Vet. Med. small Anim. Clin.* 72, 1047—1049, 1977 (6).

Osiem macior SPF szczepiono dwukrotnie 2 ml szczepionki opartej o *Clostridium perfringens* typ C (Clostrin-C-Norden). Pierwszą dawkę szczepionki po-

7. Samól S.: *Bull. Off. Int. Epizoot.* — w druku (Sesja Generalna 1976).

8. Samól S., Górski J.: *Medycyna Wet.* (część I).

Adres autora: doc. dr habil. Stefan Samól, ul. Marszałkowską 111A m. 416, 00-102 Warszawa.

Самуль С. — Исследования по обнаруживанию инфекции вирусом чумы методом флуоресцирующих противотел у собак.

Исследовались различные ткани 12 собак, павших или умерщвленных с распознаем чумы, а также центральная нервная система и слюнные железы дальнейших 12 собак, присланных на исследования относительно бешенства, а у которых бешенство было исключено. Прижизненно мазки из слизистых оболочек и периферическая кровь от 17 собак с клиническим распознаем чумы. Исследования показали полную пригодность метода флуоресцирующих противотел для обнаруживания инфекции вирусом чумы. Наиболее подходящим материалом в посмертных исследованиях являются центральная нервная система и подчелюстные железы, прижизненно же — сыворотка крови. Чужеродные тела обнаруживались, как правило, в различных тканях животных, павших в результате инфекции чумой и прижизненно — в мононуклеарных клетках крови. Дискутируется антигенный характер чужеродных телец чумы.

Samól S. — Immunofluorescent test in the diagnosis of distemper.

Various tissues of 12 dead dogs due to distemper, and the central nervous system and salivary glands from other dogs sent for examinations towards rabies, in which the disease had been excluded, were examined. Supravital swabs taken from the mucosa, and the blood from 17 dogs suspected of distemper were also evaluated. The immunofluorescent test appeared to be very useful in the diagnosis of distemper. The central nervous system and salivary glands were most suitable, and supravitaly — serum. Inclusion bodies were discovered in different tissues of dead animals due to distemper and also supravitaly in uninuclear cells. The character of the antigen of these inclusion bodies in case of distemper was discussed.

dano podskórnio w okresie 6—8 tygodni, drugą na 3 tygodnie przed terminem oproszenia. Miano antytoksyny oznaczono w surowicach macior i potomstwa. Po szczepieniu w surowicy krwi macior pojawiały się swoiste antytoksyny przekazywane prosiętom za pośrednictwem siary. Miano antytoksyny w surowicy macior w dniu porodu wynosiło 0,5—5,0 jednostek, u prosiąt 2,5—7,5 jednostek. Pierwszego dnia po urodzeniu miano antytoksyny wynosiło 2,5—5,0 jednostek, drugiego dnia 2,5—7,5 jednostek. Zapalenia jelit wywołane przez toksynę beta Cl. perfringens nie występowały u prosiąt, u których miano przeciwciał w surowicy wynosiło ponad 0,5 jedn./ml.

G.

BLAINE D. R.: Leczenie zatrucia metaldehydem u psów dużymi dawkami maleinianu acepromazy. (Treatment of metaldehyde poisoning in dogs with megadoses of acepromazine maleate). *Vet. Med. small anim. Clin.* 72, 1009—1011, 1977 (6).

U psów, bydła, koni i ludzi zatruciu metaldehydem występuje dość często. U psów w leczeniu zatrucia jest zalecana apomorfina oraz diazepam. W przypadkach uzasadnionych wskazane jest płukanie żołądka oraz parenteralne podawanie glukozy, płynu fizjologicznego oraz borogluconianu wapnia. Po iniekcjach maleinianu acepromazy w dawce 0,5 mg/funt wagi ciała, dożylnie konwulsje ustępowały po kilkunastu minutach. Iniekcje leku powtarzano kilkakrotnie (do 15 razy) w odstępach kilkuminutowych.

G.