

CHOROBY ZAKAŻNE I INWAZYJNE

ZDZISŁAW LARSKI
Olsztyn

Zachorowania świń wywołane przez wirus zapalenia mózgu i mięśnia sercowego (EMC)

Wzrost liczby wirusowych jednostek chorobowych zarówno u ludzi, jak i u zwierząt, ma kilka przyczyn. Przede wszystkim usprawnienie metod diagnostycznych pozwala wykazać wirusową etiologię niektórych schorzeń znanych od dawna. Pojawiać się też mogą nowe choroby jak na przykład w ostatnich latach choroba pęcherzykowa świń, wywołana przez nieznany dotąd wirus. Także chemiczne i fizyczne zanieczyszczenia środowiska zwierząt i ludzi mogą powodować występowanie chorób wywołanych przez wirusy, które dotąd dawały jedynie zakażenia bezobjawowe. Nawet korzystne zmiany związane z postępowaniem cywilizacyjnym mogą prowadzić do wzrostu liczby jawnych klinicznych zakażeń. Między innymi poprawa warunków higienicznych powoduje przerwanie naturalnych łańcuchów zakażeń bezobjawowych, warunkujących rozwój odporności — przykłady tego stanowią choroba Heinego-Medina oraz zapalenie mózgu i rdzenia drobiu (11). Dalszy czynnik to duża plastyczność adaptacyjna niektórych wirusów. Typowy przykład stanowi zmiana tropizmu wirusa otru bydła, który w specyficznych warunkach, nie mając możliwości przenoszenia się drogą płciową, natomiast łatwą dostępność do układu oddechowego adaptował się do niego i nabył cechy pneumotropowe (15); pojawiło się nie tyle nowe schorzenie — zapalenie nosa i tchawicy bydła — IBR („infectious bovine rhinotracheitis”), co nowa postać kliniczna zakażenia wirusem otru bydła o zmienionym tropizmie. Obserwuje się też naturalną adaptację wirusów do nowych gospodarzy — przełamywanie „bariery gatunkowej” — przykłady stanowią wirusy nowotworowe drobiu, o także przypadki izolowania w Norwegii wirusa otru bydła od świń (18).

Występowanie w ostatnich latach coraz częstszych masowych, wysoce śmiertelnych zachorowań świń na tle zakażenia wirusem zapalenia mózgu i mięśnia sercowego — EMC (*encephalomyocarditis*), będącego enterowirusem myszy (3), tłumaczy się postępującą adaptacją i wzrostem zjadliwości dla świń niektórych jego szczepów (17). Z uwagi na powolne lecz stałe rozszerzanie się tej choroby wydaje się celowe zapoznanie z nią naszych lekarzy weterynaryjnych.

Rys historyczny. Pierwszy przypadek wybuchu choroby wywołanej przez ten zarazek

stwierdzili w 1958 r. w Panamie Murname i wsp. (16). Padło wtedy w okresie 20 dni 30 świń w jednym stadzie mieszczącym 300 świń w wieku 3—5 miesięcy. Nie stwierdzono przypadków padnięć u świń w przyległym stadzie, oddzielonym tylko wąską dróżką. Świnie często obserwowano, ich stan zdrowia nie budził zastrzeżeń. Większość padnięć następowała w nocy i tylko jeden raz udało się zaobserwować stan agonalny u jednej świni; wystąpiła u niej nagła zapaść, ciężka duszność i śmierć w ciągu kilku minut.

W 1960 r. pojawiła się ta choroba w USA na Florydzie w dwu fermach (7). W jednej z 80 nie odłączonych od macior prosiąt 6-tygodniowych padło 30, w drugiej zachorowało 5 świń około 50-kilogramowych i cztery z nich padły. Jak wynikało z wypowiedzi tamtejszych terenowych lekarzy wet., przypadki takie występowały tam już 2—3 lata wcześniej, lecz przypisywano je jakimś nieokreślonym zakażeniom bakteryjnym.

W latach 1960—1966 często stwierdzano takie zachorowania świń w USA, potwierdzone izolowaniem wirusa EMC (6), jednak w wielu przypadkach trudno było określić istotną rolę samego zarazka w chorobotwórczości i śmiertelności z uwagi na równoczesną obecność w środowisku chorych zwierząt insektycydów, fosforu (trucizna na szczury, szczury zatrute) i innych substancji mogących komplikować proces chorobowy (8).

W 1966 r. w pobliżu Panama City na jednej fermie padło 14 odłączonych prosiąt 2—3 miesięcznych; po dwutygodniowej przerwie choroba pojawiła się tam ponownie u 40 prosiąt nie odłączonych i 36 z nich padło; świnie w innych pomieszczeniach tej samej fermy nie chorowały (9).

W 1966 r. Gainer i wsp. (8) przeprowadzili dokładne kliniczne, wirusologiczne i epizootologiczne badania ogniska tej choroby; padły tam 42 zwierzęta z 57, w tym 31 w grupie prosiąt 6-tygodniowych, 10 z 16 świń 3-miesięcznych i jedna z 7 macior. Szczegółowe badania pozwoliły jednoznacznie wykazać chorobotwórcze działanie wirusa EMC.

W 1970 r. stwierdzono pierwszy przypadek wybuchu choroby w Australii (2) w fermie, w której ze 168 młodych świń (w wieku 2—12 tygodni) padło 76 w okresie trzytygodniowym. Śmiertelność w poszczególnych miotach wa-

hała się od 28 do 100%; w tym samym czasie zanotowano przypadki tej choroby w 5 innych fermach. Ci sami autorzy (1) przebadali w latach 1970—1971 próbki pobrane od 49 padłych świń z 29 ognisk, gdzie łącznie padło 277 zwierząt; określono także szczegółowo chorobotwórczość wirusa dla świń po sztucznym zakażeniu (13).

W 1977 r. EMC u świń wystąpiło na Kubie (12) — śmiertelność wynosiła u prosiąt 1—7 dniowych 5%, a u 8—32 dniowych 11%.

Brak dotąd doniesień na temat tej choroby z innych krajów. Dane z Wielkiej Brytanii (17) wskazują na znaczne rozprzestrzenienie tam bezobjawowego zakażenia wirusem EMC u świń — ponad 28% tych zwierząt z różnych części kraju wykazuje obecność w surowicy przeciwciał precypitujących i zobojętniających wirus; przypuszcza się, że brak przypadków klinicznych jest następstwem mniejszej zjadliwości szczepów brytyjskich.

Wirus EMC. Zarazek ten należy do podgrupa enterowirusów w grupie *Picornavirus*; jest to enterowirus myszy (3), zaliczany dawniej do wirusów parapoliomielitycznych (10, 20). Jego szczepy — Columbia — SK, MM, Mengo i inne, izolowane w różnych częściach świata, uważano pierwotnie za odrębne wirusy. Bardziej szczegółowy opis właściwości omawianego wirusa podano w innym opracowaniu (11). Naturalnym rezerwuarem zarazka są gryzonie, same ulegające na ogół tylko bezobjawowym zakażeniom, ale stanowiące źródło zakażenia dla wielu gatunków zwierząt i człowieka. Wydalanie wirusa następuje z kałem przez bardzo długie okresy czasu. Zarazek izolowano od człowieka (m. in. w RFN od dzieci z różnymi chorobami nerwowymi), małp, szczurów, koni, bydła, świń, wiewiórek, a także od słoni w ogrodach zoologicznych. W Wielkiej Brytanii stwierdzono epidemiczne wybuchy choroby z objawami nerwowymi (porażenia kończyn tylnych) z dużą śmiertelnością u rudych wiewiórek; izolowany zarazek wykazywał właściwości wirusa EMC, lecz nie aglutynował czerwonych krwinek (21). Naturalne zakażenie wirusem EMC u małp człekokształtnych trzymanych w niewoli wyrażać się może zapaleniem mózgu i mięśnia sercowego; w przypadkach zachorowań ludzi proces chorobowy dotyczy ośrodkowego układu nerwowego bez zajęcia mięśnia sercowego, podobną lokalizację stwierdzono u konia. Ostatnio opisano 8 przypadków śmiertelnego zakażenia wirusem EMC u słoni afrykańskich w dwu ogrodach zoologicznych w USA — zmiany patologiczne rozwinęły się w sercu (19); kilka przypadków nagłych padnięć lwów karmionych mięsem tych słoni spowodował prawdopodobnie też wirus EMC. W przypadkach rozwoju klinicznego procesu chorobowego u gryzoni, zarówno po naturalnym jak i sztucznym zakażeniu, na pierwszy plan wysu-

wają się objawy zajęcia układu nerwowego. U bydła zmiany ograniczają się do mięśnia sercowego, podobnie jest u świń.

Nie wyjaśniono dotąd przyczyny różnic tropizmu wirusa EMC u poszczególnych rodzajów zwierząt. Craighead (4) wykazał niejednorodność populacji omawianego wirusa i udało mu się wyosobnić z niej dwa warianty — neutropowy „E” i miokardiotropowy „M”. Możliwe, że u różnych gatunków zwierząt jeden z tych wariantów znajduje lepsze niż drugi warunki do namnażania się i przejawiania chorobotwórczego działania.

Przedstawione dalej dane dotyczące epizootologii, przebiegu klinicznego, zmian patologicznych i rozpoznawania pochodzą z prac wymienionych już autorów pierwszych opisów tego schorzenia (1, 2, 6—8, 13, 16).

Epizootologia i klinika. Źródło wirusa powodującego zakażenia u świń nie jest całkowicie jasne. Wirus EMC izolowano co prawda zawsze od myszy i szczurów w fermach, gdzie występowała choroba, jednak po wytypowaniu gryzoni nie zawsze następował spadek liczby nowych zachorowań (1). Również przyjmowane dawniej przenoszenie się zakażenia ze świni na świnię przez kał wydaje się obecnie mało prawdopodobne w świetle wyników doświadczeń, w których trzymano razem chore i zdrowe zwierzęta w bardzo niehigienicznych warunkach (13); także badania ilości wirusa w kale świń i gryzoni wykazały, że dla wywołania zakażenia *per os* (śmiertelność ponad 50% uzyskuje się po dawce 10^6 TCID₅₀) konieczne byłoby pobranie olbrzymich ilości kału (1—10 kg). Najprawdopodobniej naturalne zakażenie następuje przez zjadanie przez świnię zakażonych gryzoni, co wykazano doświadczalnie.

Chorobę stwierdza się w różnych warunkach utrzymania i żywienia zwierząt, najczęściej chorują świnię w wieku 3—16 tygodni, lecz stwierdzano jej przypadki u prosiąt 5-dniowych, a nawet młodszych (12), jak też u zwierząt starszych, nawet u dorosłych macior.

Okres inkubacji wynosi 3—6 dni — określono go co prawda w doświadczalnych próbach zakażenia, lecz stosując naturalną ekspozycję, podając z karmą padłe zakażone myszy. Początek choroby jest często nieuchwytny — przy nadoстрыm przebiegu zwierzęta nagle padają lub znajduje się je martwe. Objawy kliniczne wyrażają się apatią, brakiem łaknienia, drżeniem, wzrostem temperatury ciała do 41°C, dusznością, porażeniami i wymiotami. Śmiertelność jest zwykle bardzo duża, lecz waha się znacznie, od kilku procent do ponad 50% a nawet sięgać może w rzadkich przypadkach 100%; na ogół jest tym większa, im młodsze są chore zwierzęta.

Zmiany anatomo-patologiczne. Ponieważ choroba ma przebieg bardzo szybki, kondycja padłych świń jest dobra. Po otwarciu zwłok

stwierdza się puchlinę opłucnej, osierdzia i wodobrzuszną, przekrwienie i obrzęk płuc, wątroba jest albo normalna albo ciemna, lekko obrzękła, mięsień sercowy wiotki i blade, przy czym zmiany te stwierdza się w komorach, a nie w przedsionkach. Bładość ta może być ogniskowa lub rozlana, a zaznaczona jest wyraźniej w prawej komorze. Niekiedy brak innych zmian w sercu, jednak zwykle stwierdza się ponadto rozsiane białe lub żółtawe ogniska, mniej lub bardziej liczne, średnicy 2—10 mm, mieszczące się tuż pod nasierdziem, lecz sięgające też w głąb mięśnia sercowego. Niektóre z nich mają kredowo-białe centra zwapnienia. Opony mózgowe mogą wykazywać lekkie przekrwienie.

Histologicznie zmiany odpowiadają ostremu zapaleniu mięśnia sercowego z naciekami komórek okrągłych (limfoidalnych). Zmiany martwicze mają charakter zarówno ogniskowy, jak i rozlany. W ogniskach zapalnych częściej następuje rozpuszczenie (liza) martwiczonych włókien mięśniowych niż zwapnienie, w pojedynczych przypadkach stwierdzano zastępcze zwłóknienie (1). Najwyraźniejsze są zmiany w ścianie stożka tętniczego, a następnie kolejno słabsze w przegrodzie międzykomorowej, mięśniu brodawkowym przegrodowym i lewym tylnym; w ścianie przedsionka stwierdza się je bardzo rzadko i tylko bardzo słabo zaznaczone, brak ich w zastawkach i dużych naczyniach. Zmian zapalnych w mózgu brak lub są tylko nieznaczne.

Rozpoznanie różnicowe. Acland i Littlejohns (1) zwracają uwagę na inne choroby świń, wykazujące kliniczne i anatomo-patologiczne podobieństwa do EMC, a mianowicie chorobę obrzękową, niedobór witaminy E i selenu, chorobę „serca morwowego” i pryszczycę. Przy chorobie obrzękowej brak jest makroskopowych zmian w sercu, przy niedoborze witaminy E i selenu może występować bladeść mięśnia sercowego, jednak stwierdza się też zmiany w mięśniach szkieletowych oraz bladeść wątroby, nie występujące przy EMC. Zmian chorobowych włósniczek, występujących zarówno przy niedoborze witaminy E i selenu, jak też przy chorobie „serca morwowego” brak jest przy EMC. Bardzo ważne jest podobieństwo zmian w sercu świń przy EMC i wywołanych przez wirus pryszczycy, zarówno terenowy, jak też przez jego szczepy szczepionkowe atenuowane dla bydła; informacje dotyczące tych ostatnich opierają Acland i Littlejohns na danych Burrowsa z 1964 r. Ponieważ zmiany te są często nie do odróżnienia, w przypadku gdy wychodzić może w rachubę EMC i pryszczycę, konieczne jest rozpoznanie wirusologiczne — identyfikacja wirusa.

Diagnostyka wirusologiczna (wg 1). Przed otwarciem zwłok wskazana jest ich powierzchniowa dezynfekcja (np. przez zanurze-

nie w roztworze podchlorynu sodu — 1200 ppm w przeliczeniu na chlor. Próbkę 2—5 gramową pobiera się z różnych narządów, przede wszystkim jednak z mięśnia prawej komory serca oraz ze śledziony, wątroby, mózgu (w tym też mózdzku i rdzenia przedłużonego); można również pobierać kał.

Sporządzoną z próbek 10%-ową zawiesinę na PBS z dodatkiem 5000 jedn. penicyliny i 5000 mcg streptomycyny wprowadza się do otrzewnowo myszom około 25-gramowym lub zakaża się hodowlę komórek. Inokulowane zwierzęta obserwuje się przez 14 dni co najmniej dwa razy dziennie. Okres inkubacji wynosi około 4 dni, a śmierć może nastąpić nagle lub też poprzedzają ją następujące objawy — nastroszenie okrywy włosowej, posuwanie się krótkimi skaczącymi ruchami, zgarbienie kręgosłupa, drgawki, porażenie tylnych części ciała. Śmierć następuje najczęściej w ciągu 7 dni. Po pasażu wirus można przenieść na hodowlę komórek dla wykonania identyfikacji.

Izolacja wirusa w hodowlach komórek. Wirus namnaża się w wielu komórkach — nerki małpy, embrionalnej nerki człowieka, nerki cielęcia, chomika, linii ciągłej HeLa i KB, lecz najlepiej w nerkach myszy, zarodka kurzego i fibroblastach zarodka myszy (14). Te ostatnie stosowali Acland i Littlejohns (1). Płyn odżywczy wzrostowy stanowił płyn Hanksa zawierający 0,5% hydrolizatu laktalbuminy, 0,1% wyciągu drożdżowego i 10% surowicy bydlęcej. Płyn odżywczy utrzymujący różnił się tylko zmniejszoną ilością surowicy — 2%.

Po zakażeniu hodowli do płynu utrzymującego inkubuje się je w sposób stacjonarny w 35°C. Efekt cytopatyczny w postaci kurczenia się komórek i piknozy pojawia się w ciągu 2—3 dni, a po dalszych 24 godzinach następuje zupełne odklejenie się warstwy komórek. Ilość wirusa jest największy w sercu, gdzie osiąga on stężenie $10^{5.5} - 10^{7.5}$ TCID₅₀/g tkanki.

Identyfikację zarazka wykonuje się przy pomocy odczynu seroneutralizacji ze stałą dawką znanej dodatniej surowicy świni lub królika, pobranej w 14 dni po jednorazowym wstrzyknięciu mu domięśniowo około 10^3 TCID₅₀ wirusa. Mieszaninę badanego wirusa i znanej surowicy trzyma się w 37°C przez 1 godzinę przed inokulacją wrażliwych podłoża biologicznych — indeks neutralizacji w hodowlach komórek oblicza się po 3 dniach obserwacji, przy użyciu myszy po 14 dniach (14). Ponieważ wirus EMC ma własności hemaglutynacyjne wobec krwinek barana, identyfikację wykonać można również w odczynie zahamowania hemaglutynacji (5).

Rozpoznanie zakażenia na podstawie dwukrotnego serologicznego badania (par surowic — z ostrej fazy i z okresu rekonwalescencji) ma stosunkowo rzadkie zastosowanie z uwagi na zwykle bardzo szybki śmiertelny przebieg

choroby u świń. Za dodatni uważa się co najmniej 4-krotny wzrost miana przy metodzie stałej dawki wirusa lub wzrost indeksu neutralizacji o 2 log przy zastosowaniu stałej dawki surowicy (14).

Badania serologiczne (przeglądy) populacji świń wykonać można przy pomocy odczynów zobojętniania, hamowania hemaglutynacji, precypitacji w żelu (17) oraz odczynu lateksowego (20). Używa się dowolnego szczepu wirusa EMC, gdyż wszystkie są antygenowo identyczne. Z tego ostatniego względu uzyskane wyniki pozwalają jedynie zorientować się co do rozprzestrzenienia zakażeń bezobjawowych u świń (także u innych zwierząt domowych oraz schwytanych gryzoni w danym gospodarstwie), natomiast nie dostarczają żadnych danych o zjadliwości wywołującego je szczepu.

Piśmiennictwo

1. Acland H. M., Littlejohns I. R.: Aust. vet. J. 51, 409, 1975.
2. Acland H. M., Littlejohns I. R., Walker R. I.: Aust. vet. J. 46, 348, 1970.

3. Andrewes C., Pereira H. G.: Viruses of Vertebrates. Bailliere Tindall, London 1972.
4. Craighead J. E.: Am. J. Path. 48, 333, 1966.
5. Craighead J. E., Shelokov A.: Proc. Soc. Exp. Biol. 109, 823, 1961.
6. Gainer J. H.: J. Am. vet. med. Ass. 151, 421, 1967.
7. Gainer J. H., Murchison T. E.: Vet. Med. 56, 173, 1961.
8. Gainer J. H., Sandehur J. R., Bigler W. J.: Cornell Vet. 58, 31, 1968.
9. Kovath R. M., Garcia Mora R., Medina H. G.: Revta Fac. Med. vet. Guatemala 2, 51, 1969, ref. Vet. Bull. Abstr. 2853, 1970.
10. Larski Z.: Medycyna Wet. 15, 321, 1959.
11. Larski Z.: Wirusologia Weterynaryjna. PWRiL, Warszawa 1975.
12. Lavicka M., Ramos R., Luya M., Reyna A., Rorroella E., Renaud J., Costillo F.: Veterinarstvi 27, 221, 1977.
13. Littlejohns I. R., Acland H. M.: Aust. vet. J. 51, 416, 1975.
14. Mayr A., Bachmann P. A., Bibrack B., Wittmann G.: Virologische Arbeitsmethoden. VEB G. Fischer Verlag, Jena 1974 u. 1977.
15. McKercher D. G.: Am. J. Vet. Res. 24, 501, 1963.
16. Murnane T. G., Craighead J. E., Mondragon H., Shelokov A.: Science 131, 498, 1960.
17. Sangar D. V., Rowlands D. J., Brown F.: Vet. Rec. 100, 240, 1977.
18. Saxegaard F., Onstad O.: Nord. Vet. Med. 19, 49, 1967.
19. Simpson C. F., Lewis A. L., Gaskin J. M.: J. Am. vet. med. Ass. 171, 902, 1977.
20. Teschner H.: Diss. Tierärztliche Hochschule, Hannover 1976.
21. Vizoso A. D., Vizoso M., Hay R.: Nature 201, 849, 1964.
22. Warren J.: Viral and Rickettsial Infections of Man. Pitman Medical, London 1965.

Adres autora: prof. dr Zdzisław Larski, 10-957 Olsztyn-Kortowo, bl. 37.

CEZARIUSZ ŻÓRAWSKI, TADEUSZ KARPIŃSKI, PELAGIA SKWAREK

Badania nad przeżywalnością prątków kwasoodpornych w gnojowicy

Z Pracowni Immunologii Gruźlicy Instytutu Weterynarii w Puławach

Intensywny rozwój hodowli bydła i świń w naszym kraju przy równoczesnym uprzemysłowieniu metod produkcji zwierzęcej, stworzył konieczność rozwiązania problemu prawidłowego zagospodarowania gnojowicy, pochodzącej z dużych ferm. O ile zagadnienia związane z techniczną i agrotechniczną stroną tego problemu są ostatnio tematem licznych prac, o tyle aspektem sanitarno-weterynaryjnym użytkowania odchodów zwierzęcych poświęca się stosunkowo niewiele uwagi. Chodzi tu głównie o przeżywalność w gnojowicy chorobotwórczych drobnoustrojów, które mogłyby zagrozić zdrowiu zwierząt i ludzi.

Dane z piśmiennictwa wskazują, że pałeczki *Brucella abortus* mogą przeżywać w gnojowicy 35—72 dni, a drobnoustroje z rodzaju *Salmonella* nawet do 300 dni (5). Co się tyczy prątków kwasoodpornych, to badania Larsena (4) wykazały, że prątki John'e'a są w stanie przeżywać w kale okres 9 miesięcy, a gnojowica zawierająca te zarazki wykorzystana do zraszania łąk i pastwisk, może być źródłem infekcji dla młodego bydła. Brak jest natomiast danych co do przeżywalności w płynnych odchodach zwierzęcych innych chorobotwórczych mykobakterii.

Celem niniejszej pracy było określenie czasu przeżywalności niektórych prątków kwasoodpornych w gnojowicy pochodzącej z różnych typów ferm bydła i świń. Równocześnie oceniono przy-

datność do tego rodzaju badań 4 wybranych podłoży bakteriologicznych, używanych do izolowania i hodowli prątków kwasoodpornych.

Materiał i metody

Gnojowica użyta do badań pochodziła z trzech obiektów: 1) Gospodarstwo O — prowadzi odchów cieląt oraz młodego bydła rzeźnego. Cielęta żywione były mlekiem chudym, wzbogaconym dodatkiem Bovitanu, sianem łąkowym oraz mieszanką C. Bukatam wagi powyżej 150 kg podawano wywar gorzelniany, kiszonkę z kukurydzy, siano oraz mieszanek T.; 2) Gospodarstwo A — obora bydła mlecznego, żywionego kiszonkami z wysłodków lub żyta oraz sianem i słomą. W obu gospodarstwach budynki inwentarskie były typu tradycyjnego, gnojowica była usuwana kanałami na zasadzie samospływu. W kolektorach ściekowych gnojowicę przetrzymywano średnio przez okres 1—2 miesięcy. 3) Obiekt M — ferma przemysłowego tuczu świń typu „Gi-Gi”. Żywienie zwierząt opierało się na mieszankach paszowych typu „Starter” i „Prestart”. Budynki fermy zaopatrzone były w automatyczne urządzenia do usuwania odchodów transportowanych rurociągami do zakładu utylizacyjnego. Gnojowicę do badań pobierano ze studzienek ściekowych przed doprowadzeniem do nich ścieków pochodzących z innych części fermy, takich jak hala ubojowa, obiekty administracyjne itp. Pomieszczenia chlewni splukiwano co 5—6 dni 3% roztworem Pollena-Jod K, w ilości 2 litry roztworu na 160 m³ ścieków.

Gnojowice pochodzące z poszczególnych obiektów pobierano do plastikowych pojemników i badano je wstępnie na obecność prątków kwasoodpornych. W tym celu 5 ml próbki poddawano homogenizacji metodą szczawianową i posiewano na 3 podłoża Lowensteina-