

EWA KARPIŃSKA, ELŻBIETA SAMOREK-SALAMONOWICZ

Pierwszy przypadek wtęrowego zapalenia wątroby kurcząt (IBH) w kraju*

Zakład Badania Chorób Drobii i Pracownia Badania Chorób Drobii Wodnego Instytutu Weternarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Wtęrowe zapalenie wątroby (inclusion body hepatitis — IBH) opisano po raz pierwszy w USA w 1963 r. (6), a następnie w wielu innych krajach. Wykazano (1, 11, 12), że czynnikiem etiologicznym tej choroby są adenowirusy. Występuje ona przeważnie u brojlerów, powodując śmiertelność od 2—10% ptaków w stadzie. Na sekcji stwierdza się zwykle wybroczyny w mięśniach, zapalenie wątroby oraz zmiany w szpiku kostnym (anemia aplastyczna). Histologicznie, w komórkach wątroby można wykazać swoiste ciała wtęrowe (3, 5, 7). W kraju dotychczas nie opisano tego schorzenia.

Opis przypadku

W czerwcu 1978 r. przesłano do Zakładu Badania Chorób Drobii I. Wet. w Puławach żywe i padłe kurczęta, krzyżówki Co i Wr, w wieku 8-12 tyg. Z wywiadu wynikało, że ptaki chorują od około 3 tygodni. Obserwowano posmutnienie, silne wychudzenie, brak apetytu, zaburzenia w poruszaniu się. W czasie trwania choroby padło około 6% ptaków.

Na sekcji u większości badanych ptaków stwierdzono silną wybroczynowość w mięśniach piersi i ud oraz zanik torby Fabrycjusza. Szpik kostny był barwy bładożółtej, konsystencji galaretowatej.

Rutynowe badania bakteriologiczne i parazytologiczne dało wynik ujemny. Z surowicami wykrwawionych ptaków wykonano immunogramy. Odczyn precypitacji z tymi surowicami przeprowadzony w kierunku zakaźnego zapalenia krtani i tchawicy (ILT), choroby Gumboro oraz zakażenia wirusem CELO dał wynik ujemny. Natomiast uzyskano 50% wyników dodatnich z antygenem IB — zakaźnego zapalenia oskrzeli kur (ferma prowadzi szczepienia przeciwko IB, zatem ich obecność, była uzasadniona), oraz 40% wyników dodatnich z antygenem sporządzonym ze szczepu Tipton adenowirusa, uznanego za standardowy do diagnozowania wtęrowego zapalenia wątroby kurcząt (IBH). Powtórne badanie surowic kurcząt omawianych stad przeprowadzono w tydzień później. Uzyskano wówczas 60% wyników dodatnich z antygenem IBH, 20% wyników dodatnich z antygenem IB oraz dodatkowo 80% wyników dodatnich z antygenem choroby Gumboro. Stwierdzone zmiany anatomo-patologiczne oraz wyniki prób serologicznych nasuwały podejrzenie zakażenia stad wirusem wtęrowego zapalenia wątroby. Podjęto zatem próbę wyosobnienia tego zarazka.

Do izolacji użyto rozcięcia wątrób chorych ptaków, który wprowadzono na błonę kosmówkowo-omoczniającą 10-dniowych zarodków kurzych SPF, w ilości po 0,1 ml. Zamieranie zarodków w pierwszym pasażu notowano po 72—96 godzinach. Padłe zarodki były pomniejszone, wątroby ich obrzękłe, silnie przekrwione, niekiedy z obecnością ognisk martwicowych w mięszu. Stwierdzono również obrzęk i zmętnienie błony

kosmówkowo-omoczniowej. Płyn owodniowo-omocznioowy oraz rozcięcia błon kosmówkowo-omocznioowych posłużyły jako materiał do drugiego pasażu. Zarodki zakażone materiałem drugiego pasażu zamierały po 48—96 godzinach. Stwierdzono zmiany analogiczne do opisanych uprzednio, z dodatkową obecnością białawych ognisk na powierzchni błon kosmówkowo-omocznioowych. Pobrane błony z padłych i zmienionych zarodków posłużyły jako antygen do testu precypitacji w żelu agarowym. Antygen przygotowano wg ogólnie przyjętych zasad (2).

Identyfikację izolatu prowadzono w oparciu o zestaw swoistych, precypitujących surowic standardowych: anty-IB, przeciw chorobie Gumboro, anty ILT, anty CELO oraz anty IBH. Linia precypitacyjną uzyskano między badanym antygenem a surowicą standardową anty-IBH. Ponieważ wyniki testu wskazywały na wyosobnienie wirusa wtęrowego zapalenia wątroby kurcząt, w celu potwierdzenia przeprowadzono badania właściwości fizyko-chemicznych uzyskanego izolatu. Wyniki badań przedstawione w tab. 1 potwierdziły przynależność izolatu do grupy adenowirusów ptasi (14). Badany izolat był oporny na działanie chloroformu, niskie i wysokie pH oraz częściowo wrażliwy na temp. 56°/30 min.

Dalsze badanie wyosobnionego wirusa prowadzono przy użyciu hodowli komórek nerki zarodka przepiórki japońskiej (JQEK). Przeprowadzono 5 pasażów izolatu. Wyniki przedstawiono w tab. 2. Badany izolat adaptował się do hodowli komórek nerki. Jego TCID₅₀ i ELD₅₀ określane na zarodkach kurzych wzrastało w miarę pasażowania. Począwszy od pasażu I, w 24 godziny p. i. obserwowano efekt cytotopyczny (CPE),

Tab. 1. Niektóre właściwości fizyko-chemiczne badanego izolatu

Rodzaj próby	Logarytm EID ₅₀		Wynik
	przed próbą	po próbie	
Wrażliwość na chloroform	7,75	6,0	Oporny
Wrażliwość na pH 2	7,75	7,0	Oporny
Wrażliwość na pH 10	7,75	6,7	Oporny
Wrażliwość na temp. 56°C/30 min.	7,75	4,0	Częściowo wrażliwy

Tab. 2. Namnażanie się badanego izolatu w hodowli komórek nerki zarodka przepiórki japońskiej

Pasaż	Logarytm		PFU
	TCID ₅₀	ELD ₅₀	
I	2,5	2,25	—
II	2,8	6,7	—
III	4,3	7,7	2,82 × 10 ⁵
IV	5,6	8,5	1,25 × 10 ⁶
V	6,0	7,5	5,2 × 10 ⁶

* Doniesienie wygłoszone na Sesji Naukowej, zorganizowanej w Puławach w dniu 6.06.1980 r. przez Komisję Patologii Drobii PTNW oraz Sekcję Wirusologiczną Lub. Oddziału PTM, poświęconej aktualnym wirusowym chorobom drobiu.

charakterystyczny dla grupy adenowirusów (9). Komórki ulegały zmniejszeniu, zaokrągleniu, silnie załamowały światło, a wewnątrz ich wypełniała zwakualizowana cytoplazma. Po 48 godzinach CPE pogłębiała się — obserwowano liczne okrągłe komórki oderwane od podłoża, zawieszona w płynie utrzymującym.

Następnie określono właściwości lysinkotwórcze izolatu, cechę uznawaną za marker genetyczny (9). Tworzenie lysinek notowano od III pasażu. Lysinki o średnicy około 7 mm i regularnym kształcie powstawały zwykle po 5 dniach inkubacji hodowli pod warstwą agarową. Wszystkie one były prawie identycznych kształtów i wymiarów, co świadczyć mogło o czystości klonalnej badanego szczepu.

W następnym etapie badań określono właściwości patogenne izolatu. Patogenność adenowirusów ptasich ocenia się zakażając nimi jednodniowe wrażliwe pisklęta. Badanie przeprowadzono na 35 jednodniowych pisklętach SPF. Wprowadzono im dotrzewnowo po 0,1 ml materiału, pochodzącego z I pasażu wirusa na JQEK. Jego EID₅₀ określone na zarodkach kurzych wynosiło 10^{5,25} w 0,1 ml. Zakażone ptaki obserwowano przez okres 4 tygodni. Codziennie, począwszy od 48 godzin p. i. do 7 dnia, a następnie co 3 dni do 20 dnia p. i. likwidowano po 2-3 ptaki celem przeprowadzenia badania sekcijnego. Objawów klinicznych u zakażonych ptaków nie obserwowano. Badanie anatomo-patologiczne prowadzone w podanych terminach dało wynik ujemny. W 3 i 4 tygodniu po zakażeniu pobrano krew od wszystkich pozostałych przy życiu ptaków i z wydzieloną surowicą przeprowadzono test precipitacji w żelu agarowym (AGP) oraz odczyn seroneutralizacji (SN). Średnie miano surowic w AGP wynosiło 8, natomiast w odczynie SN przeprowadzonym metodą beta — 2. W przeprowadzonej próbie biologicznej wykazano brak patogenności badanego izolatu dla w pełni wrażliwych kurcząt SPF.

Reasumując — powyższe badania potwierdziły izolację wirusa wtrętowego zapalenia wątroby z przypadku terenowego. Wyniki uzyskane w badaniach własnych są zgodne z doniesieniami wielu autorów, którzy sugerują, że adenowirusy są czynnikiem komplikującym przebieg innych chorób drobiu. Zakażenia samymi adenowirusami często przebiegają w formie subklinicznej i rzadko są przyczyną poważnych strat w hodowli (4, 8, 12). Fadly i wsp. (4) oraz Hoffmann i Dorn (8) uważają, że terenowym przypadkiem IBH musi towarzyszyć lub poprzedzać je stres prowadzący do obniżenia odporności humoralnej. W opisanym przypadku wykazanie zakażenia ptaków wirusem choroby Gumboro może tłumaczyć fakt ujawnienia się klinicznej formy i cięższego przebiegu wtrętowego zapalenia wątroby kurcząt. Vielitz (13), jak również Käufer i Weiss opisują podobne przypadki wtrętowego zapalenia wątroby, którym towarzyszyło zakażenie wirusem choroby Gumboro.

Piśmiennictwo

1. Bickford A. A., Krasovich M. A., Fadly A. M.: Avian Dis. 17, 629, 1973.
2. Calnek B. W., Cowen B. S.: Avian Dis. 19, 91, 1975.
3. Fadly A. M., Winterfield R. W.: Avian Dis. 17, 182, 1973.
4. Fadly A. M., Winterfield R. W., Olander M. J.: Avian Dis. 20, 467, 1967.
5. Gallina A. M., Winterfield R. W., Fadly A. M.: Avian Dis. 17, 343, 1973.
6. Hemboldt C. F., Frazier M. N.: Avian Dis. 7, 446, 1963.
7. Hoffmann R., Wesseling E., Dorn P., Dauschat H.: Avian Dis. 19, 224, 1975.
8. Hoffmann R., Dorn P.: Avian Dis. 22, 226, 1978.
9. Kawamura H., Shimazu R., Tsubahara H.: Nat. Inst. Animal Hlth. 4, 133, 1964.
10. Käufer I., Weiss E.: Dtsch. tierärztl. Wschr. 88, 93, 1977.

11. Rosenberger J. K., Eckroade R. J., Klopp S., Krauss W. C.: Avian Dis. 18, 399, 1974.
12. Rosenberger J. K., Klopp S., Eckroade R. J., Krauss W. C.: Avian Dis. 19, 717, 1975.
13. Vielitz E.: Poultry Int. 19, 36, 1980.
14. Winterfield R. W., Fadly A. M., Gallina A. M.: Avian Dis. 17, 334, 1973.

Adres autora: lek. wet. Ewa Karpińska, Al. Partyzanłów 57, 24-100 Puławy.

Карпиньская Э., Саморек-Саломонович Э. — Первый случай инклюзивного воспаления печени цыплят (IBH) в стране.

Из печени цыплят возрастом 8—12 недель изолировали на куриных зародыщах вирус, который на основе проведенных попыток идентификации причислили к группе аденовирусов. Клинические симптомы и секционные изменения были характерны для инклюзивного воспаления печени цыплят. Это — первый отмеченный в стране случай этой болезни.

Karpińska E., Samorek-Salamonowicz E. — A first case of viral inclusion-body hepatitis in chickens (IBH).

From the liver of diseased chickens, 8—12 weeks old, a virus was isolated using embryonated eggs. On the basis of different tests the virus was included to Adenoviridae. Clinical signs and anatomopathological lesions were characteristic for chicken hepatitis. It is the first case of the disease found out in Poland.

CURTIS R., BARNETT K. C.: Zmiany w oku u psa afgańskiego indukowane adenowirusem psów. (Canine adenovirus-induced ocular lesions in the afghan hound). Cornell Vet 71, 85—95, 1981 (1).

Przejęciowy, nagle występujący obrzęk rogówki występował często u psów po przechorowaniu zakaźnego zapalenia wątroby, rzadziej po szczepieniu atenuowaną szczepionką zawierającą adenowirusu typu 1. W miocie sukki rasy afgańskiej liczącym 8 szczeniąt, siedem zaszczepiono podskórnie szczepionką przeciwko wirusowi nosówki, adenowirusowi typu 1(CAV-1) oraz zabita szczepionką przeciwko *Leptospira icterohaemorrhagiae* i *L. canicola*. Po szczepieniu szczepionką CAV-1 u 3 z 7 szczepionych szczeniąt wystąpił obrzęk rogówki, gorączka, w surowicy krwi swoiste przeciwciała dla wirusa szczepionkowego. Autorzy uważają, że obrzęk rogówki jest związany z epizodami gorączki która pojawia się w okresie wirerii.

G.

STRIZ J.: Prosta metoda wykrywania dystrofil w karmowej przy użyciu fluorescencji tetracykliny. (Simple detection of nutritional muscular dystrophy using the fluorescence of tetracycline). Acta vet. Bron. 49, 223—229, 1980 (3—4).

Dwanaście jagniąt w wieku 6—7 tygodni z objawami klinicznymi żywieniowej dystrofii mięśni o różnym nasileniu i czasie trwania otrzymało w iniekcji domięśniowej oksytetracyklinę w dawce 10 µg/kg. Po 24 godzinach jagnięta poddano ubojowi. U 10 sztuk wykryto 136 makroskopowych ognisk zwyrodnienia w mięśniach i 74 ogniska o wątpliwym charakterze. Po naświetlaniu ultrafioletem ogniska zwyrodnienia wykazywały złoto-żółtą fluorescencję, która była następstwem odkładania się antybiotyku w tkance mięśniowej zmienionej chorobowo. W oparciu o tę metodę wykazano dodatkowo 17 ognisk zwyrodnienia. Fluorescencją kości i chrząstek nie interferowała z uzyskanymi wynikami badania mięśni.

G.