

STANISŁAWA WEREMOWICZ, ROMAN PARZYCH, KONRAD MALICKI

Izolacja ortomyxowirusów od koni z terenu woj. łomżyńskiego w przebiegu epizootii grypy koni w 1980 r.

Zakład Wirusologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Inwazyjnych Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR, ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Influenza koni jest zakaźną, wirusową chorobą przebiegającą z objawami ostrego nieżytu lub zapalenia układu oddechowego. Czynnikiem etiologicznym tej choroby są wirusy z rodziny *Orthomyxoviridae* — Influenza virus A/Equi-1 lub Influenza virus A/Equi-2. W późniejszym okresie dołączają się bakterie jako czynnik wikłający chorobę. Badania nad etiologią schorzeń dróg oddechowych koni były prowadzone przez Baczyńskiego i wsp. (1).

Epizootie grypy koni przebiegają w Polsce okresowo, ale nie zawsze potwierdzone są badaniami wirusologicznymi. Wirus grypy koni został wyizolowany w Polsce po raz pierwszy przez Woyciechowską i Kitę (5), w przebiegu epizootii grypy koni w 1969 r. Został on następnie zidentyfikowany jako wirus A/Equi-2, ściśle spokrewniony z prototypowym szczepem A/Equi-2/Miami/1/63.

Wiosną 1980 r. wystąpiły liczne zachorowania koni w Polsce na terenach południowo-wschodnich. Choroba szerzyła się szybko, a objawy kliniczne były podobne do opisanych przez Woyciechowską i Kitę (5) z tym, że występowały przypadki o ciężkim przebiegu kończące się śmiercią. Na podstawie objawów klinicznych można było podejrzewać, że jest to nowa epizootia grypy koni.

Dla potwierdzenia klinicznego rozpoznania podjęto próbę izolacji i identyfikacji czynnika etiologicznego tego schorzenia. Badaniami objęto konie z terenu województwa łomżyńskiego.

Materiał i metody

Izolacja wirusa. Materiał do badań wirusologicznych stanowiły wymazy z błony śluzowej jamy nosowej koni. Łącznie pobrano 18 wymazów oznaczonych numerami: 5, 9, 10, 11, 14, 19, 20, 23, 27, 35, 51, 52, 53, 55, 66, 67, 69, 81. Waciki z pobranym materiałem dostarczono do laboratorium w płynie zawierającym 5% glicerolu w PBS z dodatkiem streptomycyny, penicyliny, chloramfenikolu i nystatyny. Płynem otrzymanym po wyciśnięciu wacików zakażano po 0,2 ml do jamy omoczniowej 10-dniowe zarodki kury. Po 72 h inkubacji w temp. 35°C, zarodki schładza-

no w temp. 4°C i pobrany płyn omoczniowy badano na obecność wirusa w odczynie hemaglutynacji (HA). Każdą próbę pasażowano w zarodkach trzykrotnie. Do identyfikacji przeznaczono płyny omoczniowe pobrane po trzecim pasażu o mianie HA powyżej 1/16.

Identyfikacja wirusa. Identyfikację wyizolowanych szczepów prowadzono w odczynie zahamowania hemaglutynacji (OHZA), wykonywanym mikrometodą Takatsy (4). Do dwukrotnie wzrastających rozcieńczeń surowicy dodawano 4 jednostki hemaglutynacyjne wirusa, a po 1 h inkubacji w temp. pokojowej, 0,5% zawiesinę erytrocytów kury. Użyto surowice standardowe: A/Equi-1 i anty A/Equi-2 oraz surowicę negatywną. Antygenami kontrolnymi były płyny omoczniowe z zarodków zakażonych wirusem A/Equi-1/Praga/56, A/Equi-2/Miami/1/63, a badanymi płynami omoczniowe z zarodków zakażonych wyizolowanymi przez nas szczepami.

Wyniki i omówienie

Po pierwszym pasażu wszystkie płyny omoczniowe pobrane z zakażonych zarodków dały wynik ujemny w odczynie HA. Po drugim pasażu w zarodkach kury stwierdzono obecność wirusa w płynie omoczniowym w 6 z 18 badanych wymazów. Wirus udało się wyizolować z prób pobranych od koni w pierwszym stadium choroby. Wyizolowane szczepy oznaczono wstępnie numerami badanych koni: 52, 53, 55, 66, 67, 69. Miano HA wyizolowanych wirusów wynosiło od 1/4 do 1/16. W trzecim pasażu nie stwierdzono dodatkowych pozytywnych wyników w odczynie HA, a w próbach uprzednio dodatnich uzyskano wzrost miana HA wirusa średnio do 1/64.

Wyizolowane szczepy wirusa zidentyfikowano w OZHA. Wyniki przedstawiono w tab. 1.

Uzyskane wyniki wskazują, że wyizolowane przez nas szczepy wirusa są spokrewnione pod względem antygenowym z prototypowym wirusem A/Equi-2/Miami/1/63. Dla wyjaśnienia czy są one identyczne, czy blisko spokrewnione z prototypowym wirusem, czy też stanowią one nowy wariant antygenowy tego wirusa, należałoby zbadać je dodatkowo w OZHA z

Tab. 1. Identyfikacja w OZHA wyizolowanych w zarodkach kury szczepów wirusa grypy koni

Surowice	Antygeny								
	kontrolne		wyizolowanych szczepów nr						
	A/Equi-1/ Praga/56	A/Equi-2/ Miami/1/63	52	53	55	66	67	69	
Anty A/Equi-1/Praga/56	640	< 20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20
Anty A/Equi-2/Miami/1/63	40	160	320	160	160	160	160	160	160
Negatywna	< 20	< 20	<20	<20	<20	<20	<20	<20	<20

surowicami, uzyskanymi od fretek po przebytym, laboratoryjnym zakażeniu badanymi szczepami. Zastosowanie takich surowic pozwala wg Pereiry i wsp. (3) na wykrycie wariantów antygenowych wirusa A/Equi-2. Na podstawie tak wykonanych badań opisali oni wyizolowany przez nich wirus grypy koni A/Equi/SaoPaulo/69, jako różniący się pod względem antygenowym od prototypowego wirusa A/Equi-2/Miami/1/63. Wariant antygenowy wirusa A/Equi-2 został opisany również przez Kono i wsp. (2).

W świetle tych badań nasuwa się stwierdzenie, że potrzebne byłoby uzyskanie w kraju preparatów diagnostycznych poszerzających możliwości laboratoryjnej identyfikacji szczepów wirusa grypy koni izolowanych od koni i innych gatunków zwierząt. W pierwszym rzędzie chodziłoby o szczepowoswoiste surowice diagnostyczne uzyskane na zwierzętach laboratoryjnych wrażliwych na zakażenie wirusami grypy koni. Surowice te umożliwiłyby dokładniejsze określenie właściwości antygenowych badanych szczepów. Wyizolowane przez nas szczepy zostały przekazane do Instytutu Wirusologii im. Iwanowskiego w Moskwie dla potwierdzenia identyfikacji. Przekazano je również do międzynarodowej kolekcji szczepów wirusów grypy koni przy Światowym Centrum Grypy w Londynie.

Obserwacje nad przebiegiem i charakterem epizootii grypy koni w woj. łomżyńskim w 1980 r. oraz wyniki badań serologicznych koni z tego terenu zawarte są w oddzielnej publikacji.

Wniosek

1. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzamy, że przyczyną epizootii grypy koni w Polsce w 1980 r. był wirus A/Equi-2.

Piśmiennictwo

1. Baczyński Z., Skulmowska-Kryszkowska D., Zmudziński J.: *Medycyna Wet.* 35, 42, 1979.
2. Kono Y., Ishikawa K., Fukunaga Y., Fujino M.: *Natn Inst. Anim. Hith. Qt.* 12, 183, 1972.
3. Pereira H., Takimoto S., Piegas N., Ribetro do Valle L.: *Bull. WHO* 47, 465, 1972.
4. Takatsy G.: *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* 3, 191, 1965.
5. Woyciechowska St., Kita J.: *Medycyna Wet.* 28, 78, 1972.

Adres autora: dr Stanisława Weremowicz, ul. Zabłocińska 6 m. 42, 01-697 Warszawa.

Веремович С., Пажих Р., Малицкий К. — **Изоляция ортомиксовирусов от лошадей из Ломжинского воеводства в ходе эпизоотии инфлюэнцы лошадей в 1980 г.**

Из случаев острого развития болезни дыхательной системы лошадей из Ломжинского воеводства методом пассажирования в 10-недельных зародышках курицы изолировали 6 штаммов вируса инфлюэнцы. В лабораторных исследованиях со стандартными сыворотками изолированные вирусы вступительно распознаны как антигенно приближенные к прототипному штамму Influenza virus A/Equi-2/Miami/1/63. Штаммы передали в Институт вирусологии им. Ивановского в Москве для подтверждения идентификации. Передали их также в международную коллекцию штаммов вирусов инфлюэнцы при Мировом центре гриппа в Лондоне.

Weremowicz S., Parzych R., Malicki K. — **Isolation of orthomyxoviruses from horses during the outbreak of influenza in the Łomża district.**

Six different strains of influenza virus were isolated from horses suffering from acute form of the disease in the Łomża district in 1980. The virus was isolated by intraallantoic inoculation of 10 days old chicken embryos. Identification of the virus was performed using HI test with standard antisera. It was found that all the strains of influenza virus isolated were related with the prototype influenza virus strain A/Equi-2/Miami/1/63. To confirm the results of identification the strains were sent to D. I. Ivanovsky Institute of Virology in Moscow and to the World Influenza Centre in London.

McKONNEN FEKADU, BEAR G. M.: **Ustąpienie klinicznej wścieklizny u dwóch psów zakażonych szczepem wirusa wścieklizny z Etiopii. (Recovery from clinical rabies of 2 dogs inoculated with a rabies virus strain from Ethiopia).** *Am. J. vet. Res.* 41, 1632—1634, 1980 (10).

U dwóch z czterech psów po zakażeniu domięśniowym 0,5 ml zawiesiny mózgu myszki zawierającym 800 000 MICLD₅₀ wirusa wścieklizny (szczep wyizolowany na terenie Etiopii) po 8 dniach wystąpiły typowe objawy kliniczne wścieklizny. Po 3—4 dniach wystąpiła poprawa stanu klinicznego, zaś po 20 dniach wyzdrowienie. Jeden z psów padł później na zapalenie płuc wywołane przez *Pseudomonas aeruginosa*. U obydwu psów począwszy od 9 dnia po zakażeniu występował wzrost miana przeciwciał neutralizujących wirus wścieklizny. U psa padłego na zapalenie płuc miano przeciwciał neutralizujących wynosiło w surowicy 1400, w tkance mózgowej 18 000, zaś u drugiego psa po 51 dniach po zakażeniu i 30 dniach po ustąpieniu objawów klinicznych miano przeciwciał neutralizujących w surowicy wynosiło 1600, w tkance mózgowej 1100.

G.

CORNER L. A.: **Czas utrzymywania się odpowiedzi u bydła po zakażeniu prątkami atypowymi. (The duration of the response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria).** *Aust. vet. J.* 57, 216—219, 1981 (5).

Odpowiedź na zakażenie prątkami atypowymi — *Mycobacterium scrofulaceum*, *M. intracellulare*, *M. flavescens* i *M. simiae* prześlędzono na krowach wolnych od gruźlicy, które zakażono prątkami atypowymi podskórnie względnie do krezkowych węzłów chłonnych. Niezależnie od rodzaju prątków atypowych po tygodniu w miejscu iniekcji podskórnej powstawał obrzęk utrzymujący się przez 3—26 tygodni w przypadku *M. scrofulaceum*, *M. flavescens* i *M. simiae* i 56 tygodni w przypadku zakażenia *M. intracellulare*. Jedynie u krów zakażonych *M. intracellulare* wystąpiły zmiany chorobowe i tylko od nich wyizolowano prątki kwasooporne. Nadwrażliwość na PPD ssaków i ptaków która rozwinęła się po zakażeniu prątkami atypowymi utrzymywała się przez okres 16 tygodni. U wszystkich zakażonych sztuk występowała również nadwrażliwość na tuberkulinę sporządzoną z prątków użytych do zakażenia.

G.