

JERZY KITA

Epizootia wywołana przez wirus Getah wśród koni wyścigowych w Japonii

Katedra Epizootiologii Wydziału Weterynaryjnego SGGW-AR,
ul. Grochowska 272, 03-849 Warszawa

Wirus *Getah* (WG) dotychczas był izolowany od komarów w Australii (1, 3), Japonii (11, 13) i Malezji oraz od klinicznie zdrowych świń w Japonii (cyt. 6). Obecność przeciwciał jako dowód zakażenia wykazano u człowieka i zwierząt w Australii i Południowej Azji (2, 5, 9, 12). Do niedawna brak było danych na temat patogenności WG dla ludzi i zwierząt.

Pierwsze zachorowania stwierdzono dopiero pod koniec września 1978 r. Wybuchła wówczas epizootia wśród koni na jednym z torów wyścigowych w Japonii. Objawami jej były podwyższona ciepłota wewnętrzna ciała, obrzęk kończyn i wysypka skórna. Z 1903 koni wyścigowych zachorowało 722 pełnej i pół krwi angloarabskiej.

W Polsce zakażenia wirusem *Getah* dotychczas nie stwierdzono, chociaż obserwacje kliniczne niekiedy mogą nasuwać podejrzenie występowania tej choroby również i w naszym kraju.

Epizootiologia i klinika

Pierwsze zachorowania z objawami ze strony układu oddechowego odnotowano u 6 koni 30 września 1978 r. Do 10 października zachorowały 103 konie. W okresie 43 dni, to jest do 11 listopada, choroba objęła 37,9% koni na torze wyścigowym. Wiek i płeć w zasadzie nie wpływały na przebieg choroby, chociaż u koni dwuletnich zachorowalność była nieco wyższa niż w innych grupach wieku (40,8%). Choroba

szerzyła się powoli i nieregularnie, co ilustruje ryc. 1; np. pierwszych 6 koni zachorowało w 6 różnych stajniach. Następnego dnia 17 koni zachorowało w 17 stajniach. Po 18 dniach przynajmniej 1 koń był chory w każdej ze 118 stajni. Podczas epizootii zachorowalność w stajniach, składających się z 19 boksów, kształtowała się następująco: powyżej 50% zachorowań odnotowano w 28 stajniach, 25% — 50% w 54 i poniżej 25% w 36 stajniach.

Objawy kliniczne były bardzo zróżnicowane. Biorąc je pod uwagę chore konie podzielono na dwie grupy: gorączkujące i bez podwyższonej ciepłoty wewnętrznej ciała (tab. 1). W grupie I brak apetytu obserwowano u 590 koni (81,7%), w tym 230 wykazywało tylko wzrost ciepłoty ciała w granicach 38,5° — 40°C, 106 miało podwyższoną ciepłotę ciała i wysypkę, a u 103 odnotowano wzrost temperatury i obrzęk kończyn. Wystąpienie wszystkich objawów jednocześnie zaobserwowano u 151 koni. W grupie II na 132 u 78 koni stwierdzono wysypkę, u 20 obrzęk kończyn i u 34 wysypkę i obrzęk kończyn.

Podwyższona ciepłota ciała poprzedzona była wysypką lub obrzękiem u 61% (217/356), podczas gdy 34% (121/356) było dotkniętych równocześnie tymi objawami. Tylko u 5% (18/356) koni zaobserwowano wzrost temperatury po wystąpieniu wysypki lub obrzęku kończyn. U koni notowano także powiększenie węzłów chłonnych podżuchowych.

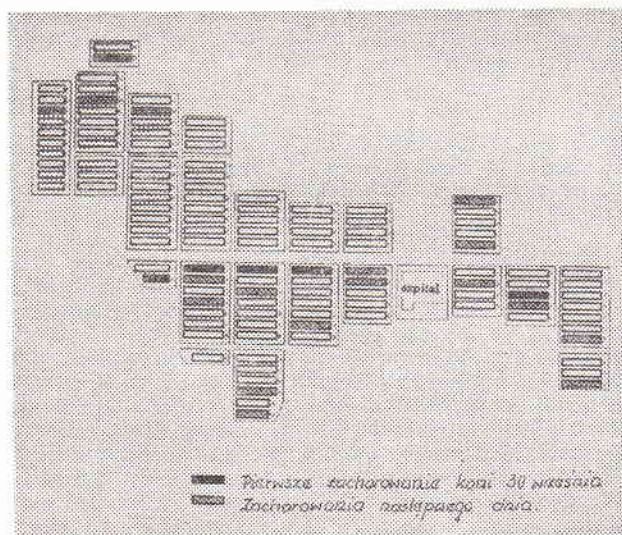
U większości zwierząt temperatura wracała do normy w ciągu 3 dni, niekiedy gorączka w okresie 8 dni miała charakter dwufazowy. Zmiany skórne w postaci grudek bez strupów pojawiały się w okolicy szyi, barku, przedpiersia oraz kończyn tylnych na wysokości uda i podudzia. Średnica grudek wynosiła 3 — 5 mm i 10 — 15 mm.

Obrzęk kończyn o charakterze niezapalnym występował głównie w okolicy pęciny. Zmiany skórne i obrzęk zanikały po upływie kilku dni od spadku gorączki.

U 96% koni choroba trwała 7 dni. Konie z pełnym zespołem objawów klinicznych (gorączka, wysypka i obrzęk) wracały do zdrowia w ciągu 14 dni od ustąpienia gorączki.

Etiologia

Szczep MI-110 wirusa wyizolowanego od koni podczas opisywanej epizootii został zakwalifi-



Ryc. 1. Schemat toru wyścigowego w Miho (wg 4)

Tab. 1. Konie z objawami klinicznymi (wg 4)

Grupa	Objawy kliniczne				ogółem
	podwyższenie ciepłoty ciała	wysypka	obrzęk kończyn	wysypka i obrzęk kończyn	
I. Konie z podwyższoną ciepłotą wewnętrzną ciała	230	106	103	151	590 (81,7%)
II. Konie z normalną ciepłotą wewnętrzną ciała	0	78	20	34	132 (18,3%)
Razem	230	184	123	185	722

kowany do podgrupy *Getah* grupy Alphawirusów z rodziny *Togaviridae*. Dobrze namnaża się on w zarodkowych hodowlach pierwotnych komórek płuc, mózgu, śledziony, nerki, wątroby i trzustki konia. W niższych mianach również w hodowlach komórek błony śluzowej nosa, mięśni szkieletowych, grasicy i tarzycy.

Spośród linii stałych zastosowanie mają BHK-21, HmLu, Vero, RK-13 i ESK. Początkowy efekt cytopatyczny to zaokrąglenie i wakuolizacja komórek dzięki zagęszczeniu cytoplazmy, następnie zaś rozpad i odklejanie się komórek. Wirus nie powoduje powstawania ciałek wtęgowych ani w jądrze, ani w cytoplazmie komórek.

Szczep *Getah* MI-110 izolowany od koni zachowuje stabilność w pH 6 — 9, traci ją w środowisku o pH niższym od 5 i wyższym od 10. Bardziej wrażliwy jest na odczyn kwaśny. Wirus ulega inaktywacji przy pH 2 — 4 w ciągu 180 minut. Jest wrażliwy na ogrzewanie w temperaturze powyżej 50°C. Działanie 50°C inaktywuje go po upływie 120 minut, 56°C po 15 minutach i 60°C po 10 minutach.

Niskie temperatury sprzyjają przeżywalności wirusa. Inaktywacji ulegał po 4 dniach przechowywania w temp. +37°C i 7 dniach w temp. +20°C, a własności infekcyjne zachował przez 3 miesiące przechowywania w temp. +10°C i przez 6 miesięcy w temp. +4°C. Działanie temperatury -20°C i -80°C przez 24 miesiące nie obniżało miana wirusa. 0,5% roztwór trypsyny inaktywował wirus *Getah* w ciągu 5 godzin, zaś roztwór 0,25% po upływie 6 godzin. Działanie 0,1% roztworu trypsyny przez 6 godzin znacznie obniżało jego infekcyjność (8).

Własności antygenowe

Porównawcze badania serologiczne wykonane metodą seroneutralizacji (SN) i zahamowania hemaglutynacji szczepu MI-110 z 6 innymi szczepami alphawirusów wykazały jego ściśle powinowactwo antygenowe ze szczepami AMM 2021, *Haruna* i *Sakai*. Przy użyciu testu wiązania dopełniacza wykazano ściśle powinowactwo antygenowe pomiędzy 4 szczepami wirusa *Getah*. Szczep *Sagiyama* miał względnie ściśle powinowactwo antygenowe ze szczepami *Ross River* i *Chikungunya*.

Patogenność wirusa

Brak danych na temat patogenności WG dla koni skłonił naukowców japońskich do przeprowadzenia szeregu badań. Kamada i wsp. wykonali próbę biologiczną zakażając drogą domięśniową konia (7). Materiałem zakaźnym był szczep MI-110 w pasażach od 0 do 10 hodowli komórkowej. U koni zakażonych eksperymentalnie plazmą koni zakażonych w warunkach naturalnych (pasaż 0 — grupa 1) oraz płynem z hodowli komórkowej 2 i 3 pasaży (grupa 2) po 2 — 3 dniach wystąpił wzrost ciepłoty ciała. Ponadto w obu grupach odnotowano objawy kliniczne podobne do obserwowanych w czasie epizootii, chociaż nieco słabiej wyrażonych.

Spośród 4 koni (grupa 3) zakażonych szczepami MI-110 i MI-237 wirusa *Getah* na poziomie 10 pasaży tylko u dwóch wystąpiła wysypka skórna. Pojawiła się ona 7 — 8 dnia po zakażeniu również w mniejszym nasileniu w porównaniu z przypadkami zakażenia naturalnego. Po dalszych 3 — 4 dniach zmiany te zanikły. W grupach 1 i 2 stwierdzono łagodną limfopenię w okresie ostrym, następnie limfocytozę, a w okresie rekonwalescencji nieznaczna monocytozę. W grupie 3 nie stwierdzono zmian hematologicznych.

Wirus przyżyciowo reizolowano zarówno z plazmy, jak i pośmiertnie z narządów wewnętrznych tylko w grupie koni, u których obserwowano wzrost ciepłoty ciała.

Po 6 — 7 dniach od zakażenia metodą SN wykazano wzrost poziomu przeciwciał. Najwyższe miano w granicach 320 — 1280 odnotowano po 14 dniach. Ogólnie miana były wyższe u koni, u których obserwowano wzrost ciepłoty ciała. Po 6 miesiącach miano surowicy wynosiło 160 — 640. W świetle powyższych wyników nie widać istotnej różnicy w patogenności pomiędzy 0 a 3 pasażem wirusa. Miana serologiczne oraz objawy kliniczne u koni zakażonych eksperymentalnie wskazują na możliwość utraty tej patogenności w kolejnych pasażach.

Nadal sprawą otwartą pozostaje wpływ wielkości dawki *inoculum*. Nie znany jest też mechanizm powstawania wysypki. Być może związany jest on z poziomem przeciwciał analogicznie jak przy odrze u ludzi. Sugeruje się, że może być ona skutkiem działania kompleksu

wirus-przeciwciężło. Wiadomo też obecnie, że okres wirerii w zakażeniu WG jest dość krótki i trwa 3 dni od wystąpienia gorączki.

Prace japońskie wykazały niezbyt dużą patogenność WG dla koni w przeciwieństwie do wirusa zapalenia mózgu należącego również do grupy alphawirusów.

Zmiany anatomo- i histopatologiczne

Makroskopowo u wszystkich koni odnotowano nieznaczne powiększenie węzłów chłonnych śledzionowych i pachwinowych. Pod torebką śledziony były widoczne liczne grudki chłonne. Stwierdzono obrzęk i przekrwienie węzłów chłonnych przez uwypuklenie się ich miąższu na przekroju. Śledziona u 3 koni była nieznacznie powiększona, powierzchnia przekroju była ziarnista. Grudki miąższu białej na przekroju były powiększone i dobrze widoczne. Wątroba była lekko powiększona u 2 koni. W jednym przypadku obserwowano lekkie przekrwienie kłębków nerkowych.

U 1 konia opona miękka mózgu była przekrwiona i lekko pofaidowana. U 3 koni w wyniku zastojów chłonki tkanka podskórna całego ciała była nieznacznie obrzęknięta. U tych zwierząt przyżyciowo obserwowano wysypkę w postaci rozsiianych plamek na skórze, które na przekroju były widoczne w postaci ograniczonych bladoczerwonych zgrubień (14).

Najbardziej typowymi zmianami histopatologicznymi był rozrost tkanki limfoidalnej węzłów chłonnych podczuchowych, pachwinowych, śledzionowych, nerkowych i pachwinowych. Obserwowano powiększenie rozmiarów i liczby grudek chłonnych w części korowej i okołokorowej węzłów. Większość proliferujących komórek określono jako duże limfocyty, a u 2 koni w węzłach chłonnych pachwinowych i śledzionowych jako duże limfoblasty.

W przestrzeni okołokorowej węzłów chłonnych wykazano rozległy rozplęć małych limfocytów. Ponadto u 3 koni obserwowano dużą liczbę okrągłych komórek zasadochłonnych, proliferujących w pasmach i zatokach części rdzennej węzłów. Rozszerzone zatoki zawierały liczne komórki limfoidalne. W kilku węzłach chłonnych u 2 koni odnotowano zmiany zwyrodnieniowe komórek limfoidalnych w zatokach. W śledzionie zauważono rozplęć komórek limfoidalnych. W grudkach chłonnych stwierdzono proliferację licznych limfocytów, przy czym duża liczba dojrzałych limfocytów gromadziła się w strefie obwodowej grudek. U 2 koni większość grudek chłonnych w śledzionie wykazywała cechy zaniku oraz uszkodzenie limfocytów i obecność uaktywnionych makrofagów.

U 1 konia wykazującego objawy wysypki stwierdzono, że zmiany skórne ograniczały się do skóry właściwej, przyjmując makroskopowo postać bladoczerwonych ognisk. Badania histopatologiczne wymienionych zmian ustaliły obecność okołonaczyniowych i rozlanych nacieków komórek limfoidalnych i histiocytów. Obserwowano zgrubienie naczyń chłonnych oraz obrzmienie komórek mięśniowych gładkich. Tworzące skupiska nacieki komórek limfoidalnych i histiocytów w skórze powodowały rozdzielenie włókien kolagenowych. Ponadto w niektórych przypadkach odnotowano rozproszone ogniska krwiotoczne oraz nacieki eozynofili.

W mózgu w hipokampie stwierdzono znaczne zmiany w postaci typowych nacieków okołonaczyniowych składających się z komórek jednojądrzastych. W niektórych skrawkach mózgu zauważono małe nacieki limfatyczne okołonaczyniowe i niewielkie wybroczyny. W jednym przypadku odnotowano w substancji szarej części lędźwiowej i piersiowej rdzenia kręgowego niewielkie wylewy krwi.

Zmiany histologiczne w wątrobie spotykane u niektórych zwierząt wyrażały się nieznacznym obrzę-

kciem i złuszczeniem komórek Kupfera oraz niewielkimi skupiskami komórek limfoidalnych w zatokach zrazików. W nerkach obserwowano przekrwienie kłębków wyrażające się wypełnieniem pętli naczyń włosowatych, a także niewielki rozplęć komórek. Zauważono również kropelki hyalinopodobne w torebce Bowmana. W kłębkach nerkowych stwierdzono zgrubienie błony podstawnej wykazującej odczyn PAS dodatni. Istotnych zmian w innych narządach nie stwierdzono (14).

Wirus *Getah* powoduje dość rozległe zmiany w wielu narządach i we krwi. Na szczęście istnieje możliwość różnicowania choroby z wirusowym zapaleniem mózgu i tętnic pomimo przynależności do tej samej rodziny *Togaviridae*.

Drogi szerzenia się choroby

Drogi szerzenia nie są znane. Ponieważ WG izolowany był w Japonii od komarów *Culex tritaemiorhynchus* i *Aedes vexans* przez Matsuyamę i wsp. (11) oraz Scherera i wsp. (13) podjęto pracę eksperymentalną nad przeniesieniem zakażenia na komara. W badaniach ekologicznych Kumanomido i wp. (9) ustalono, że *A. vexans*, jeden z reprezentantów rodzaju *Aedes*, jest szeroko rozpowszechniony w Japonii. Nie wiadomo jednak było, czy komar ten może spełniać rolę wektora zakażenia WG u koni. Badania na ten temat podjęli Kumanomido i wsp. (10). W tym celu odłowiono komary w pobliżu toru wyścigowego, na którym odnotowano wybuch choroby. Około 400 komarów podzielono na 4 grupy. Trzy z nich były doświadczalne, a jedna stanowiła kontrolę. Komary zakażano przez karmienie odwołknioną krwią świń morskich z dodatkiem wirusa MI-110 z 10 pasaży z hodowli komórkowej Vero o różnych mianach: $10^{5.0}$ (grupa I), $10^{4.8}$ (grupa II), $10^{3.7}$ (grupa III) PFU/ml. Po 3 tygodniach z I grupy komarów reizolowano wirus w 91%, z II — w 76,1% i z III — 2,5%. Grupa kontrolna była ujemna.

Badania te wskazują, iż komar *A. vexans* może spełniać rolę wektora w zakażeniu koni wirusem *Getah*. Dla pełnego potwierdzenia tej hipotezy należałoby przeprowadzić dalsze badania — bezpośrednie przeniesienie zakażenia na konie za pośrednictwem komara, a także poszukiwanie innych wektorów.

Udało się też 3 konie zakażyć przez wstrzyknięcie heparynizowanej krwi pobranej od chorego konia. Jeśli przyjmiemy, że komar *A. vexans* może być wektorem choroby, to przeniesienie on zakażenia jedynie wówczas, gdy pobierze krew od konia w ściśle określonym czasie, to znaczy w okresie wirerii.

W związku z izolacją wirusa z wymazów nosowych sugeruje się także możliwość szerzenia się choroby drogą aerogenną.

Badania seroepizootiologiczne

Dalsze badania epizootiologiczne miały na celu wykazanie stopnia rozprzestrzenienia zakażenia w populacji koni przed wystąpieniem

zachorowań, w trakcie choroby oraz w okresie rekonwalescencji. Po wygaśnięciu epizootii na torze wyścigowym w Miho u 93% koni zakażonych (z kliniczną postacią choroby) wykazano obecność przeciwciał. Przeciwciała te były obecne u 34,2% koni nie wykazujących objawów klinicznych choroby. Średnia geometryczna mian SN wynosiła odpowiednio dla grupy zakażonej 113,5 i klinicznie niezakażonej — 24,9. Procent dodatnich mian w grupie koni zakażonych był 2,7 razy wyższy, a średnia geometryczna tych mian 4,6 razy wyższa w porównaniu z grupą klinicznie zdrowych koni. Imagawa i wsp. (9) ustalili, że znaczny procent koni w okresie ostrym nie posiada przeciwciał. Z reguły stwierdzano je dopiero w okresie rekonwalescencji. Ponieważ u części koni, na podstawie objawów klinicznych uznanych za niezakażone, wykazano obecność przeciwciał, wydaje się, że zakażenie WG może przebiegać również bezobjawowo. Potwierdza to inna obserwacja. Badania serologiczne przeprowadzone w różnych hodowlach koni wykazały zróżnicowanie w występowaniu przeciwciał w zależności od badanego regionu: liczba dodatnich seroreagentów wahała się od 54,5% w Chubu (region połudn.-zach.) do 3,5% w Kanasu (region zach.). Przeciwciała stwierdzano u koni w wieku powyżej 2 lat.

Fakt, że pierwsze zachorowania wystąpiły w Japonii, tłumaczy się m.in. położeniem toru Miho na podmokłym terenie w pobliżu jeziora Kasumiguara, na wzgórzu, które było otoczone drzewami.

Piśmiennictwo

1. Doherty R. L., Carley J. G., Mackerras M. J., Marks E. M.: Aust. J. exp. Biol. Med. Sci. 41, 17, 1963.
2. Doherty R. L., Gorman B. M., Whitehead R. H., Carley J. G.: Aust. J. exp. Biol. Med. Sci. 44, 365, 1966.
3. Doherty R. L.: Aust. Vet. J. 48, 172, 1972.
4. Fukunaga Y., Ando Y., Imagawa H., Wada R., Kumanomido T., Akiyama Y., Watanabe O., Niwa K., Takemaga S., Shibata M., Yamamoto T.: Bull. Equine Res. Inst. 18, 94, 1981.
5. Imagawa A.: Japan J. Vet. Sci. 43, 797, 1981.
6. Kamada M., Ando Y., Fukumaga T., Kumanomido R., Imagawa H., Wada R., Akiyama Y.: Am. J. Trop. Med. Hyg. 29, 984, 1980.
7. Kamada M., Ando Y., Fukumaga Y., Imagawa H., Wada R., Kumanomido T., Tabuchi E., Hirasawa K., Akiyama Y.: Bull. Equine Res. Inst. 18, 84, 1981.
8. Kamada M., Kumanomido T.: Japan J. Vet. Sci. 44, 89, 1982.
9. Kumanomido T. i wsp.: Japan Bull. Equine Res. Inst. 19, 89, 1982.
10. Kumanomido T. i wsp.: Bull. Equine Res. Inst. 19, 93, 1982.
11. Matsuyama T., Oya A., Ogata T., Kabayashi I., Nakamura T., Takahashi M., Kitaoka M.: Jap. J. Med. Sci. Biol. 13, 191, 1960.
12. Sanderson C. J.: Am. J. Trop. Med. Hyg. 18, 433, 1959.
13. Scherer F., Funkenbusch M., Buescher E. L., Izumi T.: Am. J. Trop. Med. Hyg. 11, 255, 1962.
14. Wada R. i wsp.: Japan J. Vet. Sci. 44, 411, 1982.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Kłta, ul. Wąski Dunaj 7 m. 8, 00-256 Warszawa

JERZY NOWACKI, STANISŁAWA LEWANDOWSKA*, JACEK PRZYMUS

Dalsze badania nad nieszkodliwością szczepionki przeciw listeriozie dla jagniąt

Katedra Epizootiologii i Klinika Chorób Zakaźnych Wydziału Weterynaryjnego AR,
pl. Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

* Katedra Mikrobiologii Wydziału Weterynaryjnego AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Prowadząc badania nad zmiennością szczepów wchodzących w skład żywej szczepionki (1) postanowiono prześledzić wrażliwość jagniąt, których odporność obniżono immunosupresorami na podanie żywej szczepionki przeciw listeriozie oraz wrażliwość jagniąt na zwiększone dawki szczepionki.

Materiał i metody

Do doświadczeń użyto 24 jagniąt klinicznie zdrowych w wieku 3—4 miesięcy, które podzielono na grupy:

I — 12 jagniętom podano po 3 ml szczepionki, z tym, że 7 jagnięt otrzymało równocześnie cyklofosfamid (20 mg/kg), a po 6 miesiącach poddano je próbie challenge'u. U 5 jagnięt, którym podano tylko szczepionkę sprawdzono odporność po 12 miesiącach,

II — 6 jagnięt otrzymywało przez kolejne 8 dni po 0,125 g hydrokortyzonu domięśniowo. W 4 dniu podawania tego preparatu 3 jagnięta zaszczepiono normalną dawką szczepionki (3 ml/sztukę), a 3 pozostawiono jako grupę kontrolną,

III — 3 jagniętom podano jednorazowo 3-krotną dawkę szczepionki (9 ml/sztukę),

IV — 3 jagniętom podano jednorazowo 5-krotną dawkę szczepionki (15 ml/sztukę).

Jagnięta badano klinicznie, hematologicznie i serologicznie okresowo przed i po podaniu immunosupresorów i szczepionki.

W badaniach immunologicznych posługiwano się odczynem aglutynacji — OA, oznaczaniem limfocytów esterazododatnich oraz testem rozetowym EA. Po uboju diagnostycznym wykonano badania anatomiczne, histopatologiczne i bakteriologiczne.

Wyniki i omówienie

Jagnięta po podaniu immunosupresorów i normalnej dawki szczepionki nie wykazywały w stanie zdrowia odchyłań od normy. Wewnętrzna ciepota ciała mierzona codziennie przez okres 3 tyg. pozostawała w granicach fizjologicznych. Jedynie u dwóch jagnięt, którym podano cyklofosfamid zaobserwowano wypadanie wełny. Natomiast jagnięta, którym podano jednorazowo trzy- i pięciokrotną dawkę szczepionki zareagowały 1-stopniowym pod-