

ZYGUNT PEJSK, BARBARA WASIŃSKA, STANISŁAW WARDZIŃSKI

Ocena przydatności krajowej szczepionki Rhinovac w profilaktyce zakaźnego zanikowego zapalenia nosa u świń

Zakład Badania Chorób Świń Instytutu Weterynarii, ul. Partyzantów 57, 24-100 Puławy
Wojewódzki Zakład Weterynarii, ul. Dubois 40, 87-800 Włocławek

Mimo rozbieżności co do szczegółów wszyscy — w zasadzie — zgadzają się z tym, że zakaźne zanikowe zapalenie nosa świń (zzzn) jest wieloczynnikową chorobą zakaźną i zaraźliwą (4, 6, 7, 8, 9, 13, 15, 19, 24, 26). Głównym etiologicznym czynnikiem tej choroby są zjadliwe szczepy *Bordetella bronchiseptica* (B.b.) oraz toksynotwórcze szczepy *Pasteurella multocida* (P.m.). Istotny udział w powstaniu i szerzeniu się choroby odgrywają złe warunki środowiskowe (mikroklimat, żywienie), a także predyspozycje genetyczne zakażonych zwierząt (1). Od kilku lat w profilaktyce zzzn stosowana jest w Polsce, z dobrymi efektami (17, 23), importowana monowalentna szczepionka Solcorinitella. W ostatnim okresie opracowana została przez Wasińskiego i Wasińską (26) szczepionka krajowa przeciw zzzn p.n. Rhinovac. Pierwsze serie tego biopreparatu wyprodukowano w 1986 roku. Celem prezentowanej pracy była ocena: nieszkodliwości, immunogenności oraz przydatności terenowej, produkowanej przez P.Z.P. Biowet Puławy szczepionki Rhinovac, przeznaczonej do immunoprofilaktyki zzzn.

Materiał i metody

Szczepionka, Rhinovac jest zawiesiną krajowych wysoce immunogennych szczepów B.b. wyosobnionych z ostrych przypadków zzzn. Jeden ml biopreparatu zawiera około 30 mld komórek bakteryjnych. Szczepionka jest inaktywowana formaliną (0,2%) i konserwowana mertiolatem, stosuje się ją domięśniowo, jednorazowa dawka wynosi 2 ml.

Zwierzęta. Do oceny nieszkodliwości biopreparatu użyto 10 dwutygodniowych prosiąt, a do badań serologicznych — 8 loch wraz z ich potomstwem (58 prosiąt) oraz 12 warchlaków. W badaniach terenowych wykorzystano natomiast 190 macior oraz 1551 prosiąt. Zwierzęta te stanowiły własność gospodarstwa „M”, w którym objawy kliniczne oraz zmiany radiologiczne wskazujące na zzzn stwierdzono u około 70% zwierząt — prosiąt, warchlaków i tuczników. Warunki środowiskowe pomieszczeń, w których przebywały świny — nie budziły zastrzeżeń.

Postępowanie. Nieszkodliwość biopreparatu oceniono podając 2 tygodniowym prosiątom podskórną lub domięśniowo po 2 ml biopreparatu oraz obserwując zwierzęta przez okres 7 dni.

Badaniom serologicznym poddano następujące grupy zwierząt:

1. cztery lochy prośne (1, 2, 3 i 4) szczepione 2-krotnie w 5 i 3 tygodniu przed porodem;
2. potomstwo dwóch loch j.w. immunizowane w 8 i 10 tygodniu życia;
3. dwa mioty prosiąt nie szczepionych, urodzonych przez lochy uodporniane j.w.;

4. cztery lochy prośne (5, 6, 7 i 8) nie szczepione oraz potomstwo tych samic immunizowane w 8 i 10 tygodniu życia;

5. dwie grupy warchlaków, po 6 zwierząt w każdej, uodporniane dwukrotnie, w odstępie 2 tygodni.

Dla każdej z grup zwierząt doświadczalnych przewidziano odpowiednią grupę kontrolną, składającą się ze świń nie szczepionych. Krew do badań pobierano od zwierząt 1—4-krotnie przed szczepieniem oraz 5—7-krotnie, w odstępach 2—3 tygodniowych, po szczepieniu. Do chwili rozpoczęcia badań serologicznych uzyskane surowice przechowywano w zamrożeniu. Poziom swoistych przeciwciał anti-B.b. określono odczynem aglutynacji probówkowej z aglutynogenem własnym. Jako miano surowicy przyjęto odwrotność najwyższego ich rozcieńczenia, w którym co najmniej 2/3 aglutynogenu wytrąciło się w postaci charakterystycznego osadu. Na podstawie wyników badań serologicznych wyliczono średnie geometryczne miano surowic dla poszczególnych grup zwierząt.

Badania terenowe. Wszystkim doświadczalnym samicom z gospodarstwa „M” podano szczepionkę „Rhinovac” w dawce 2 ml, dwukrotnie, 5 i 3 tygodnie przed porodem. Taką samą dawkę biopreparatu podano w 8 i 10 tygodniu życia wszystkim prosiątom, urodzonym przez uodpornione samice. Lochom oraz prosiątom kontrolnym w analogicznych terminach wprowadzono domięśniowo *aqua pro iniectione*. Wszystkie użyte do badań zwierzęta poddano w ciągu 8 miesięcy życia, obserwacjom klinicznym w kierunku wartości uodporniającej szczepionki. W 21 i 170 dniu życia dokonano pomiarów przyrostu masy ciała (m.c.) 50 losowo wybranych zwierząt immunizowanych i kontrolnych. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu testu t-Studenta, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Wyniki i omówienie

Badane serie szczepionki okazały się nieszkodliwe dla 2-tygodniowych prosiąt.

Wyniki badań serologicznych loch, prosiąt i warchlaków przedstawiono w tab. 1, 2, 3. Dane zawarte w tab. 1 przemawiają za tym, że oceniana szczepionka posiada znaczną wartość immunogenną. Miano przeciwciał u loch szczepionych dwukrotnie, w ostatnim trymestrze ciąży, wynosiło bowiem w dniu porodu 640—1280, podczas gdy w grupie loch nie uodpornionych pozostawało ono w tym samym okresie na poziomie 20—160 (tab. 2). Wyniki przedstawione w tab. 1 wskazują również na bardzo dobre przekazywanie przeciwciał anti-B.b. prosiątom wraz z siałą. W drugim tygodniu życia średnia ich miana w poszczególnych miotach prosiąt, uodpornionych biernie drogą laktogenną, wynosiła od 685 do 905, podczas gdy u osesków kontrolnych (tab. 2) miano to nie przekraczało 47. Przeciwciała siarowe utrzymywały się na

Tab. 1. Poziom aglutynin anty-*B. bronchiseptica* w surowicach prosiąt uodpornianych i nie uodpornianych pochodzących od loch immunizowanych szczepionką „Rhinovac”

Nr lochy	Miano surowicy lochy w dniu porodu	Liczba prosiąt w miocie	Średnie geometryczne miano surowic prosiąt										
			2 tyg.	4 tyg.	6 tyg.	8 tyg.	10 tyg.	13 tyg.	16 tyg.	19 tyg.	22 tyg.		
1	640	7	844	452	360	152	I szczep.	540	II szczep.	905	762	427	340
2	640	10	685	470	320	113	I szczep.	440	II szczep.	707	640	390	365
3	1280	6	864	520	386	187	nie szczep.	77	nie szczep.	53	48	59	50
4	640	7	905	492	405	112	nie szczep.	49	nie szczep.	68	61	53	46

Tab. 2. Poziom aglutynin anty-*B. bronchiseptica* w surowicach prosiąt immunizowanych pochodzących od loch nie uodpornianych

Nr lochy	Miaro surowicy lochy w dniu porodu	Liczba prosiąt w miciu	Średnie geometryczne miar surowic prosiąt										
			2 tyg.	4 tyg.	6 tyg.	8 tyg.	10 tyg.	13 tyg.	16 tyg.	19 tyg.	22 tyg.		
5	160	4	47	40	37	49	I szczepienie	280	II szczepienie	538	427	360	142
6	40	8	26	26	40	40		320		790	517	390	254
7	20	6	28	20	26	36		254		1020	712	404	320
8	80	10	42	48	36	40		452		860	640	370	340

Tab. 3. Poziom aglutynin anty-*B. bronchiseptica* w surowicach warchlaków uodpornianych i kontrolnych

Grupa świń	uodpornienie	Liczba zwierząt w grupie	Średnie geometryczne miano surowic świń							
			przed szczepieniem	po szczepieniu						
				I	II					
				2 tyg.	3 tyg.	6 tyg.	10 tyg.	13 tyg.	16 tyg.	20 tyg.
A	Rhinovac	6	18	355	905	670	504	452	405	360
B	Rhinovac	6	20	285	840	608	486	360	320	285
C	Kontrolne	6	20	20	24	20	26	32	30	32

poziomie chroniącym zwierzęta przed zakażeniem (>100) co najmniej do 8 tygodnia życia. W grupie zwierząt kontrolnych na przestrzeni omawianego okresu miano aglutynin anty- *B.b.* nie przekraczało w żadnej z grup prosiąt wartości 50.

Za immunogennością badanych serii szczepionki przemawiają również wyniki czynnego uodporniania prosiąt. Już w 14 dniu po pierwszym podaniu Rhinovacu prosiętom 8-tygodniowym miano przeciwciał czynnych wzrosło u zwierząt, pochodzących od macior immunizowanych, do 440—540. Rewakcyacja w 10 tygodniu życia, doprowadziła do dalszego znacznego wzrostu poziomu miana aglutynin i w 3 tygodniu po tym zabiegu miano to oscylowało w granicach 757—905. W grupach prosiąt nie uodpornianych czynnie, ale pochodzących od macior szczepionych, miano przeciwciał anty-*B.b.* wynosiło w tym okresie około 60.

Podobnie efektywne działanie szczepionki obserwowano w miotach prosiąt immunizowanych w 8 i 10 tygodniu życia, pochodzących od loch nie szczepionych (tab. 2). Średnie miano przeciwciał anty- *B.b.* 2 tygodnie po pierwszej immunizacji przekraczało 200, a po rewakcyacji wzrosło w poszczególnych miotach prosiąt od 538 do 1020. Wyraźną obecność przeciwciał czynnych anty-*B. bronchiseptica* (miano >100) obserwowano przez co najmniej 12 tygodni po drugim szczepieniu prosiąt.

W tab. 3 przedstawiono zachowanie się poziomu przeciwciał anty- *B.b.* w surowicach warchlaków immunizowanych szczepionką Rhinovac 2-krotnie. Jak wynika z przedstawionych danych, już 2 tygodnie po pierwszym szczepieniu poziom omawianych ciał odpornościowych był w grupach zwierząt szczepionych 14—18-krotnie wyższy niż w grupie kontrolnej. Najwyższe miano poszczepienne osiągnęły zwierzę-

Tab. 4. Występowanie objawów klinicznych zzzn oraz padnięcia w grupach świń

Grupa	Liczba zwierząt	Zwierzęta z objawami klinicznymi zzzn		Padnięcia			
				od urodzenia do odsadzenia		od odsadzenia do 170 dni życia	
		liczba	%	liczba	%	liczba	%
Doświadczalna	1126	183	16,2	107	9,5	58	5,1
Kontrolna	425	287	67,5	71	16,7	56	13,1

Tab. 5. Kształtowanie się przyrostów masy ciała świń uodpornianych biernie i czynnie szczepionką „Rhino-vac”

Grupa	Liczba zwierząt	Masa ciała świń (dni życia)					
		1		21		170	
		$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	min-max
Doświadczalna	50	1,4	0,9-1,9	6,5	5,1-8,0	105,4 ^x	92,0-118,0
Kontrolna	50	1,1	0,6-1,6	6,0	5,0-7,2	92,4	81,5-103,2

Objaśnienia: x — różnica statystycznie istotna przy $p \leq 0,05$.

ta doświadczalna w trzy tygodnie po rewakcji. Miano to wynosiło w grupie A — 905, w grupie B — 840, a u zwierząt kontrolnych 24. Od 6 tygodnia po drugim szczepieniu zwierząt obserwowano stały spadek miana aglutynin, niemniej w 20 tygodniu badań poziom ich był u świń uodpornianych około 10 razy wyższy niż u zwierząt kontrolnych.

Porównując uzyskane dane z wynikami otrzymanymi przy badaniu surowic świń immunizowanych szczepionką Solcorinitella (23), stwierdzono, że we wszystkich grupach zwierząt uodpornianych biopreparatem Rhinovac miano surowic było wyższe. Nie ulega wątpliwości, że istotny wpływ na to miała m.in. większa ilość antygeny znajdującego się w jednej dawce Rhinovacu.

Zebrane w tab. 4 wyniki obserwacji terenowych dowodzą, że zastosowanie szczepionki krajowej u macior i prosiąt pozwoliło na wyraźne ograniczenie liczby zwierząt z klinicznymi objawami zzzn oraz na znaczne zmniejszenie globalnej liczby padnięć świń w okresie przed i po odsadzeniu. Odsetek zwierząt, u których zarejestrowano objawy kliniczne omawianej choroby wynosił 16,2% w grupie doświadczalnej i 67,5% w grupie zwierząt kontrolnych. Padnięcia prosiąt w porównywanych grupach świń wynosiły odpowiednio 9,5% i 16,7% przed odsadzeniem oraz 5,1% i 13,1% w okresie od odsadzenia do 170 dnia życia.

Korzystny stan zdrowotny prosiąt czynnie immunizowanych miał wpływ na szybsze tem-

po przyrostów m.c. tych zwierząt. Jak wskazują dane, które zebrano w tab. 5, różnica w średniej masie prosiąt doświadczalnych i kontrolnych zaczęła się zaznaczać już w 21 dniu ich życia; była ona statystycznie istotna ($p \leq 0,05$) u świń, które osiągnęły wiek 170 dni.

Omawiając wyniki przeprowadzonych badań należy zauważyć, że profilaktyka swoista zzzn została wdrożona do rutynowego stosowania w wielu krajach Europy, Ameryce Płn. i Japonii już w połowie lat siedemdziesiątych, a opublikowane rezultaty wskazują, że efektywność tego rodzaju postępowania jest znaczna (2, 3, 10, 12, 14, 16, 20, 21).

Warto jednak zwrócić uwagę, że mimo wielu koncepcji co do składu szczepionek i zasad immunizacji efektywność immunoprofilaktyki jest znacznie zróżnicowana i zawsze uzależniona od warunków środowiskowych panujących w uzdrawianym stadzie. Wykazano (10, 14), że szczepionka stosowana w gospodarstwach, w których równocześnie z wprowadzonym programem profilaktycznym zdecydowanie poprawiono warunki środowiskowe dała bardzo dobre efekty, podczas gdy immunizacja świń tym samym biopreparatem w obiektach charakteryzujących się złymi warunkami środowiskowymi nie dawała pozytywnych rezultatów. Bardzo istotny wpływ na efektywność immunoprofilaktyki odgrywa właśnie kierowanie procesami produkcyjnymi — management, a także przyjęty system szczepień (11). Dowiedziano, że przebywanie w tym samym pomieszczeniu loch

szczepionych i nie szczepionych obniża skuteczność prowadzonej profilaktyki, wykazano też, że doszczepianie macior w kolejnych cyklach reprodukcyjnych wyraźnie poprawia efektywność tego zabiegu (20).

Na wspomniany wpływ wskazują dane publikowane przez wielu autorów (10, 16, 17, 23). Dla przykładu Jong (10), prowadząc szczepienia w 10 fermach, w niektórych zmniejszył występowanie formy klinicznej zzzn z 25% do około 1%, a w innych nie uzyskał w ogóle pozytywnych efektów. Pedersen (16) prowadząc profilaktykę swoistą obniżył w ciągu roku liczbę przypadków zzzn z 43% do 4%. Dla przypomnienia, w badaniach własnych wprowadzenie kompleksowego programu profilaktycznego tylko w jednym cyklu reprodukcyjnym, pozwoliło zmniejszyć występowanie klinicznych objawów zzzn z 62,5% do 16,2%.

Są jednak i tacy, nieliczni wprawdzie autorzy (22), którzy stosując różne szczepionki przeciw zzzn nie wykazali istotnego wpływu immunoprofilaktyki na zmniejszenie się liczby klinicznych przypadków tej choroby w stadzie. Generalnie panuje przekonanie, że właściwie realizowany i oparty o jakościowo odpowiednie biopreparaty program immunoprofilaktyki zzzn w stadzie zakażonym, pozwala na zminimalizowanie (do 1% przypadków) występowania formy klinicznej zzzn, nie gwarantuje natomiast zupełnego uzdrowienia stada (11). To ostatnie osiągnąć można, zdaniem niektórych badaczy (20), jedynie poprzez wprowadzenie programów SPF, lub też na drodze likwidacji stad zapowietrzonych i powtórny zasiedleniu chlewni materiałem zarodowym, pochodzącym ze stad właściwie kontrolowanych.

Oceniając pozytywnie wpływ stosowanej szczepionki krajowej na ograniczenie strat związanych z występowaniem zzzn należy pamiętać, że monowalentna szczepionka Rhinovac, podobnie jak znana w Polsce wakcyna Solcorinitella, zawiera w swoim składzie wyłącznie antygeny *B. bronchiseptica*.

Przydatność opartych o antygeny B.b. szczepionek monowalentnych w profilaktyce polietyologicznej jednostki chorobowej, jaką jest zzzn wyjaśnić można tym, że ograniczenie spowodowanych bordetelami zmian patogennych w obrębie błony śluzowej jamy nosowej, a w tym przede wszystkim utrzymanie sprawności śluzowo-rzęskowego mechanizmu obrony przeciwzakaźnej, utrudnia pasterelom zasiedlenie ograniczając tym samym skutki ich patogennej działalności (25). Bywa prawdopodobnie jednak i tak (18), że przyczyną wybuchu omawianej choroby mogą być wyłącznie toksynotwórcze szczepy P.m. W takich przypadkach przydatność szczepionki monowalentnej jest zdecydowanie ograniczona.

Biorąc powyższe pod uwagę prowadzi się w IWet, dalsze badania nad doskonaleniem Rhinovac poprzez włączenie do jego składu innych

antygenów, mających znaczenie w etiologii zzzn.

Wnioski

1. Dwukrotne podanie lochom, w 5 i 3 tygodniu przed porodem, krajowej szczepionki Rhinovac stymuluje wysoki wzrost w ich surowicy poziomu swoistych aglutynin anty-*B. bronchiseptica*.
2. Przeciwciała te przekazywane są przez lochy potomstwu wraz z siarą, osiągając w surowicach prosiąt poziom podobny jak u matek.
3. Dwukrotne szczepienie warchlaków prowadzi do podwyższenia ich odporności na zakażenie *B. bronchiseptica* przez okres co najmniej 20 tygodni.
4. Zastosowanie szczepionki Rhinovac w ognisku chorobowym pozwala na istotne ograniczenie występowania klinicznej formy zzzn, zwiększenie przyrostów m.c. świń oraz zmniejszenie ilości paszy zużywanej przez te zwierzęta.

Piśmiennictwo

1. Akkermans J. P., Ouwekerk M., Terpstra J. J.: Tijdschr. Diergeneesk. 102, 188, 1977.
2. Baars J. C., Jong M. F., Storm P. K., Willems H., Penninga A.: Proc. IPVS Congress, Mexico 1982, s. 121.
3. Bercofich Z., Jong M. F.: Tijdschr. Diergeneesk. 101, 1011, 1976.
4. Daniel G. M., Freese W., Henry S., Stevermer E., Straw B., Switzer W. P.: Vet. Med. 81, 735, 1986.
5. Elias B.: Zentbl. VetMed. B. 33, 60, 1986.
6. Farrington D. O., Switzer W. P.: J. Am. vet. med. Ass. 170, 34, 1977.
7. Frymus T., Müller E., Schultz A., Kobatsch B., Ueberschar S., Petzold K.: Proc. IPVS Congress, Barcelona 1986, s. 229.
8. Harris D. L., Switzer W. P.: Am. J. vet. Res. 33, 1975, 1972.
9. Jong M. F., Oei L., Tetenburg G. J.: Proc. IPVS Congress Copenhagen 1980, s. 211.
10. Jong M. F., Bouwkamp F. T., Oosterwoud R. A.: Proc. IPVS Congress, Ghent 1984, s. 113.
11. Jong M. F.: Atrophic rhinitis in pigs. Drukkerij Elinkwijk BV-Utrecht, 1985.
12. Koshintsu K., Kodama Y., Ogata M., Kino T., Sanbyakuda S., Minusa T.: Jap. J. vet. Sci. 35, 411, 1973.
13. Krauss S., Wolosyn S., Zioto T.: Annls. Univ. Mariae Curie Skłodowska Sect. DD. 20, 243, 1965.
14. Marell G. M., Wachter J. C., Jong M. F., Kuiper A. F.: Proc. IPVS Congress Ghent 1984, s. 171.
15. Pedersen K. B., Barford K.: Nord. VetMed. 33, 513, 1981.
16. Pedersen K. B., Barford K.: Nord. VetMed. 34, 293, 1982.
17. Rudy A., Pejsak Z., Pleknił K., Tarasuk K.: Medycyna Wet. 40, 500, 1984.
18. Rutter J. M., Rojas X.: Vet. Rec. 110, 531, 1982.
19. Rutter J. M.: Res. vet. Sci. 34, 207, 1983.
20. Schöss P.: Dt. tierärztl. Wschr. 87, 425, 1980.
21. Sharpee R. L., Nelson L. D., Keich R. L., Świerczkowski T. C.: Proc. IPVS Congress, Ghent 1984, s. 175.
22. Söderind O., Bergstöm G.: Proc. IPVS Congress, Ghent 1984, s. 175.
23. Tarasuk K., Pejsak Z., Rudy A., Giedroń A.: Medycyna Wet. 40, 416, 1984.
24. Thiel C. P.: Untersuchungen über der Vorkommen toxinbildender Pasteurella multocida und Bordetella bronchiseptica — Stämme bei der Rhinitis Atrophicans des Schweines, Praca dokt. Tierärztliche Hochschule, Hannover 1983.
25. Wasinski K.: Medycyna Wet. 37, 659, 1981.
26. Wasinski K., Wasinska B.: Sprawozdanie IWet. Puławy, 1984.

Adres autora: doc. dr hab. Zygmunt Pejsak, ul. Kościuszki 12/9, 24-100 Puławy

Пейсак З., Васинская Б., Вардзинский С. — Оценка пригодности отечественной вакцины Rhinovac в профилактике атрофического ринита свиней

Цель работы состояла в оценке: безвредности, иммуногенности и местной пригодности выпускаемой в Польше вакцины Rhinovac, предназначенной для иммунопрофилактики инфекционного атрофического ринита носа. Эта вакцина является суспензией инактивированных высоко иммуногенных штаммов B.b. Одна доза биопрепарата содержит 60

млд бактериальных клеток. Проведенные лабораторные и местные исследования показали, что: 2-кратное введение свиноматкам на 5 и 3 неделе до родов отечественной вакцины Rhinovac стимулирует высокий рост в их сыворотке уровня специфических агглютининов анти-*B. bronchiseptica*; эти противотела передаются свиноматками потомству с молозивом, достигая в сыворотках поросят уровня, подобного как у матерей; 2-кратная вакцинация отъемышей ведет к повышению их иммунитета к инфекции *B. bronchiseptica*; в течение по крайней мере 20 недель; применение вакцины Rhinovac в очаге болезни позволяет существенно ограничить появление клинической формы и.а.р.н., увеличить привесов свиней и уменьшить количества корма, потребляемого этими животными.

Pejsak Z., Wasińska B., Wardziński S. — **The usefulness of vaccine against infectious atrophic rhinitis in pigs made in Poland**

The aim of the work was to evaluate vaccine called Rhinovac taking into account its harmless, immunogenicity against infectious atrophic rhinitis and usefulness under field conditions. The vaccine contained highly immunogenic strains of *B. bronchiseptica*, submitted to the process of inactivity, consisted of 60×10^9 bacterial cells in one dose. The laboratory and field conditions showed that two injections of the Rhinovac given in the 5th and 3rd week before parturition stimulated a high level of agglutinins. These antibodies transferred with colostrum to offspring reached the same level in the sera of progeny as in mothers. Vaccination of young pigs (twice) increased a state of immunity to infection with *B. bronchiseptica* at least for 20 weeks; its use to vaccinate the pigs in infected farms led to a marked decrease of clinical forms of rhinitis, a rise of body weights and a drop of fodder usage.

TADEUSZ KOZIOŁ

Wirusy wyizolowane z przewodu pokarmowego świń w Polsce

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Rodakowskiego 6, 50-966 Wrocław

52
14

Zainteresowanie wirusami przewodu pokarmowego występującymi u trzody chlewnej, w tym enterowirusami, trwa nieprzerwanie od czasu ich wyisobnienia (3, 4, 11, 22, 23, 25, 26, 28). Zarazki te stanowią dogodny model do prowadzenia badań podstawowych, zmierzających do poznania wiriona, tj. jego struktury i składu chemicznego (1, 3, 6, 8, 9, 16, 31, 36). Równocześnie śledzi się rolę i znaczenie tych drobnoustrojów jako potencjalnych i rzeczywistych czynników chorobotwórczych (4, 13, 17, 18, 21, 27, 32, 35).

Patogenność enterowirusów świń dobrze udokumentowano w stosunku do szczepów reprezentujących 1 serotyp, to jest do wirusa choroby cieszyńskiej i choroby talfańskiej (15, 26, 28). Poznano także chorobotwórczość niektórych innych enterowirusów, jak szczep E1, T1, PS34, powodujących zapalenia mózgu świń w Kanadzie i USA (11, 28). Są prace wskazujące na udział enterowirusów w zaburzeniach przewodu pokarmowego, a także w rozrodzie i płodności — grupa SMEDI (2, 7, 10, 12, 14, 18, 19, 32, 33, 34). Ponadto wiele szczepów uznaje się za niepatogenne lub o patogenności nieznanej (3, 4, 12, 14, 20, 21).

Badania przedstawione w niniejszej pracy mają na celu prześledzenie częstości występowania wirusów w przewodzie pokarmowym świń zdrowych i chorych oraz ich przynależności systematycznej.

Materiał i metody

Badania wirusologiczne. Materiałem do badań wirusologicznych był kał świń zdrowych w wieku 3—6 miesięcy oraz nabłonek jelita cienkiego pobrany pośmiertnie od prosiąt z objawami biegunki.

Przygotowanie materiału. Kał i nabłonek jelit homogenizowano w płynie Eagle'a z dodatkiem penicyliny 1000 j/ml, streptomycyny 1000 ug/ml i fungizonu 30 ug/ml, przygotowując 10% zawiesinę. Materiał preinkubowano w temp. pokojowej 60 min., a następnie wirowano (4000 obr./min. 30 min.). Supernatanty przechowywano w temp. -20°C , względnie wysiewano bezpośrednio na pierwotne lub ciągle hodowle komórek (HK), nie rozcieńczane oraz w rozcieńczeniu 1:10, 1:100, 1:1000. Materiałem z każdego rozcieńczenia zakażano po 4 próbówki z wyrośniętą HK wprowadzając po 0,2 ml homogenizatu. Zakażone HK inkubowano w termostacie firmy Heraeus (atmosfera z dodatkiem 5% CO_2 , temp. 37°C) i oglądano codziennie pod małym powiększeniem mikroskopu (80 $\times$), śledząc rozwój zmian w zakażonej hodowli.

Hodowle komórek. Hodowle pierwotne komórek nerek świń (HKNS) i komórek nerek płodów świń (HKNES) przygotowywano według metody podanej przez Buczkę (5). W badaniach użyto także komórek linii ciągłych: nerek świń PK 15 i IBRS 2.

Zmiany cytopatyczne (CP) i indentyfikacja szczepów metodami fizyczno-chemicznymi. Obecność wirusów w badanym materiale wykrywano na podstawie zmian CP w hodowlach komórek. Typ zmian CP tworzonych przez wyizolowane szczepy wirusów w HKNS i HKNES oraz w komórkach linii ciągłych PK 15 i IBRS 2 określano według kryteriów wprowadzonych przez Zoletto (38). Badania fizyczno-chemiczne przeprowadzono według ogólnie przyjętych metod, stosując: 10% chloroform, 20% eter, i 1% roztwór trypsyny Difco 1:250, 1% roztwór saponiny, 1 M roztwór MgCl_2 , 5-jododezoksurydynę (JUDR) w stężeniu 100 ug/ml. Badano także wrażliwość wyizolowanych wirusów na pH 3 i pH 9 (24).

Właściwości hemaglutynacyjne wyisobnionych szczepów określono w stosunku do krwinek czerwonych: człowieka grupy „0”, konia, krowy, świni, barana, psa, kota świnki morskiej, myszy, kury. Jako kontrolę odczynu użyto wirusa parainfluenzy (PI 3). Badania wykonano w temp. 20°C i 4°C w stosunku do 0,75% zawiesiny krwinek w PBS. Odczyn wykonano metodą „mikro”, w plastikowych płytkach produkowanych przez „Plastomed”.