

JACEK WÓJCIK, BEATA MIZAK, MARTA CHROBOCIŃSKA,
ANTONI KOPCZEWSKI*, LEON SABA**

Próba określenia etiologii wirusowej zespołu płucno-sercowego u lisów pospolitych

Zakład Chorób Zwierząt Mięsożernych i Futerkowych Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

*Wojewódzki Zakład Weterynarii, ul. Na Stoku 50, 80-874 Gdańsk

**Stacja Badawcza Zwierząt Futerkowych, Instytut Zootechniki, ul. J. Sarego 2, 31-047 Kraków

Summary

Attempts at evaluating the role of the viral agent in the etiology of cardio-pulmonar syndrome in foxes

Cardio-pulmonar syndrome, reported in Poland since the mid-eighties, causes losses up to 40% in the young fox population. Virological examinations of internal organ homogenates of foxes in which cardio-pulmonar syndrome was clinically and gross-pathologically diagnosed have been done at the National Veterinary Institute in Puławy. The studies do not confirm the role of the viral agent in the etiology of cardio-pulmonar syndrome in foxes.

W Polsce, w połowie lat osiemdziesiątych zaobserwowano u lisów pospolitych (srebrzyste, platynowe, pastelowe i płomieniste) schorzenie przebiegające z objawami silnej duszności, kończące się nagłą śmiercią. Choroba nazwana zespołem płucno-sercowym występuje ze zmiennym nasileniem w poszczególnych latach, a straty w pogłowiu młodych lisów w fermie objętej chorobą ocenia się na 10-40%. W obrazie sekcyjnym stwierdza się dużą ilość krwistego płynu w klatce piersiowej i worku osierdziowym. Płuca są zwykle przekrwione, z silnym obrzękiem. Czasem występuje ich stan zapalny. Objawem patognomicznym było powiększenie mięśnia sercowego. Zmiany w mięśniu sercowym u lisów przypominały występujące przy kardiomiopatii zastoinowej u psów (2, 3, 5, 7, 14). Poglądy na temat etiologii tej choroby u psów są rozbieżne. Jako czynniki przyczynowe wymienia się niedobory witaminy E i selenu (15) oraz tauryny (13), czynniki toksyczne (1) i zakaźne (4, 10). Jak dotąd nie udało się potwierdzić roli czynników zakaźnych w etiologii zespołu płucno-sercowego u lisów. Badania w mikroskopie elektronowym nie wykazały obecności cząstek wirusowych w narządach wewnętrznych chorych lisów (8). Stąd też celem badań przeprowadzonych w 1995 r. w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym była próba ustalenia udziału wirusów w etiologii choroby.

Materiał i metody

Przygotowanie prób do badań. Materiał do badań stanowiły narządy wewnętrzne: płuca, serce, nerki, wątroba i śledziona pobrane od 15 chorych lisów, które w stanie agonalnym poddano eutanazji. Zwierzęta w wieku 3-4 miesięcy

pochodziły z ferm środkowowschodniej Polski. Lisy były utrzymywane w systemie klatkowym i żywione karmą z udziałem pasz mięsnych i roślinnych. Narządy wewnętrzne homogenizowano sporządzając 10% zawiesinę w buforowym płynie fizjologicznym PBS z dodatkiem antybiotyków. Przygotowaną zawiesinę zamrażano 3-krotnie w temp. -20°C , rozmrażano, a następnie wirowano. Zebrany supernatant filtrowano przez sączki membranowe o średnicy por 0,22 μm i przechowywano w temperaturze -20°C .

Hodowle komórkowe. Do badań użyto hodowle komórek linii ciągłych płuc kota (Fc), nerki psa (MDCK) oraz nerki małpy (Vero). Komórki namnażano w płynie wzrostowym DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium – Gibco BRL) lub Eagle'a (Wytwórnia Surowic i Szczepionek – Lublin), z dodatkiem 10% bydlęcej surowicy płodowej (F.C.S-Sera-Tech GmbH) oraz 50 $\mu\text{g/ml}$ gentamycyny (Gibco BRL). Dla celów izolacji wirusa hodowle komórkowe zakładano w płaskodennych płytkach Nunc Multidish (24 baseniki o powierzchni wzrostu 1,8 cm^2) wprowadzając do każdego basenika $2-5 \times 10^5$ komórek o żywotności nie mniejszej niż 90%. Płytki inkubowano w temperaturze 37°C w atmosferze 4% CO_2 , do czasu uzyskania pełnego pokrycia dna basenika (ok. 36-48 godzin).

Izolacja wirusa. W pełni wyrosnięte hodowle komórkowe zakażano wprowadzając do każdego basenika po 100 μl przygotowanych uprzednio filtratów narządów wewnętrznych. Inokulowane hodowle inkubowano w temp. 37°C w atmosferze 4% CO_2 przez 5 dni, prowadząc codzienną obserwację mikroskopową. W przypadku braku zmian cytopatycznych (CPE), w piątym dniu inkubacji, hodowle zamrażano i rozmrażano 3-krotnie, a uzyskaną zawiesinę zakażano ponownie w pełni wyrosnięte hodowle komórkowe. W sumie wykonano 7 kolejno następujących po sobie pasażów badanego materiału.

Odczyn hemaglutynacji (HA). Do odczynu HA użyto filtratów narządów wewnętrznych (płuca, serce, wątroba, nerka, śledziona) przygotowanych w sposób opisany powyżej. Odczyn HA wykonano według metody Larskiego (9), z zastosowaniem 1% zawiesiny erytrocytów kury, barana, królika, świnki morskiej, psa, świni i człowieka (krew grupy 0).

Próba biologiczna. Filtraty narządów wewnętrznych wprowadzono podskórnie, w objętości 0,5 ml 10 myszkom o wadze ok. 12 g, po 2 ml 8 świnkom morskim i 4 królikom oraz po 4 ml 4 psom i 4 lisom. Ponadto dwa lisy otrzymały dodatkowo po 5 ml opłucnowego płynu przesączynowego, pobranego od lisa uśpionego w agonii. Obserwację zwierząt prowadzono przez 14 dni, a następnie poddawano je eutanazji i badano sekcyjnie.

Wyniki i omówienie

Wykazanie we wstępnych badaniach rozcierów narządów wewnętrznych lisów czynnika aglutynującego erytrocyty kró-

lika sugerowało możliwość istnienia czynnika zakaźnego w etiologii zespołu płucno-sercowego. Obserwacje te nie zostały potwierdzone posiewami badanego materiału na hodowlę komórek linii ciągłej nerki królika (RK₁₃) oraz pierwotną hodowlę komórek nerki psa. Powyższe spostrzeżenia skłoniły do przeprowadzenia szerszych badań wirusologicznych narządów wewnętrznych lisów padłych z objawami klinicznymi zespołu płucno-sercowego w okresie letnim 1995 r.

Zwierzęta doświadczalne: myszki, świnki morskie, króliki, a także psy i lisy poddane próbie biologicznej pozostały zdrowe w ciągu 14-dniowej obserwacji. Nie stwierdzono u nich również lokalnych reakcji w miejscu podania homogenizatów narządów wewnętrznych. Badania sekcyjne zwierząt doświadczalnych nie wykazały zmian w obrębie klatki piersiowej i jamy brzusznej. Również u lisów, którym podano opłucnowy płyn przesączynowy pobrany od zwierząt w agonii, nie zanotowano zmian anatomopatologicznych charakterystycznych dla zespołu płucno-sercowego.

Dalsze badania koncentrowały się na próbach izolacji czynnika wirusowego w hodowlach komórek, w których przeprowadzono po siedem kolejnych pasażów homogenizatów narządów wewnętrznych lisów. W komórkach nerki kota (Fc), nerki psa (MDCK) i nerki małpy (Vero) nie stwierdzono efektu cytopatycznego towarzyszącego namnażaniu się wirusów. W pierwszych dwóch pasażach homogenizatu śledziony i wątroby obserwowano zmiany zwyrodnieniowe w komórkach użytych do badań, co może świadczyć o cytotoksycznym działaniu filtratu narządów wewnętrznych. Brak zmian cytopatycznych w hodowlach komórek płuc kota, nerki psa i nerki małpy inokulowanych filtrowanymi homogenizatami narządów wewnętrznych pochodzących od lisów, u których klinicznie i sekcyjnie stwierdzono objawy niewydolności płucno-sercowej, może wskazywać na brak antygenów wirusowych w badanych narządach. Spostrzeżenia te potwierdza fakt braku czynnika aglutynującego erytrocyty psa, królika, świnki morskiej, barana, świni, kury i człowieka grupy „0”. Również badania histopatologiczne narządów wewnętrznych padłych zwierząt opisane przez Sabę i wsp. (11) wskazują jednoznacznie na niewydolność układu krążenia i wynik tych badań jest zgodny z opisaniem wcześniej przez Kopczeńskiego i wsp. (8), a także Fernsa i wsp. (6) oraz Onderkę i wsp. (12). Zmiany w układzie płucno-sercowym rozwijają się samoistnie, w miarę pogłębiania się niewydolności krążenia i oddychania i powodują stan ogólnego niedotlenienia organizmu. Zmiany

wtórne powstające w wątrobie i nerkach są efektem przekrwienia żylnego i ich niedotlenienia. W nerkach obserwowano ponadto zwyrodnienie mięszone nabłonka części wydzielniczej, szczególnie kanalików I rzędu. Zmiany nefropatyczne, nie mające cech zapalenia, były silnie nasilone u 50% sekcjonowanych zwierząt. Niewydolność nerek prowadząca do zaburzeń równowagi sodowo-potasowej wydaje się potęgować niewydolność mięśnia sercowego, w którym dominują zmiany zwyrodnieniowe z niedotlenieniem. W płucach nie obserwowano oznak zapalnych wskazujących na infekcje bakteryjne i wirusowe. W śledzionie, poza nieznacznym przekrwieniem, nie stwierdzono transformacji komórkowej, wskazującej na odczynowość immunologiczną.

Opisane zmiany histopatologiczne narządów wewnętrznych (11) oraz wyniki przeprowadzonych badań wirusologicznych nie wskazują na udział czynnika wirusowego w etiologii zespołu płucno-sercowego u lisów.

Piśmiennictwo

1. Brown M. L., McGrath J. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135, 735, 1970.
2. Calvert C. A., Chapman W. L., Taol R. L.: J. Am. Vet. Med. Ass. 181, 598, 1982.
3. Chevillat N. G.: Cardiovascular System in Cell Pathology. The Iowa State University Press, Ames, Iowa 1983, s. 621.
4. Detweiller D. K., Glickman L. T.: Kleintierpraxis 28, 295, 1983.
5. Ettinger S. J., Suter P. F.: Acquired Diseases of the Myocardium. W: Canine Cardiology. W. B. Saunders, Philadelphia 1970, s. 383.
6. Ferns L. E., Clark M. H.: Biology, Pathology and Genetics of Fur Bearing Animals. Wyd. Murphy B. D., Hunter D. B., University of Prince Edward Island, Canada 1988, s. 177.
7. Hazlett J. J., Maxie M. G., Allen D. G., Wilcock B. P.: Can. Vet. J. 24, 205, 1983.
8. Kopczeński A., Zdunkiewicz T., Woźniewicz B., Salwa A.: Życie wet. 68, 110, 1993.
9. Larski Z.: Diagnostyka wirusologiczna chorób zwierząt. PWRiL, Warszawa 1977.
10. Maciołek H.: Życie wet. 64, 47, 1989.
11. Motz J., Rubaj B., Saba L., Stawoń J., Bis-Wencel H., Nozdryn-Płotnicki Z.: Medycyna Wet. 51, 618, 1995.
12. Onderka D. K.: Biology, Pathology and Genetics of Fur Bearing Animals. Wyd. Murphy B. D., Hunte D. B., University of Prince Edward Island, Canada 1988, s. 170.
13. Roe D. A., Weston M. O.: Science 205, 287, 1965.
14. Saudusky G. E., Capen C. C., Kerr K. M.: Can. J. Comp. Med. 48, 81, 1984.
15. Van Vleet J. F.: J. Am. Vet. Med. Ass. 166, 769, 1975.

Adres autora: dr Jacek Wójcik, ul. Kościuszki 12/23, 24-100 Puławy

PERL S., YERUCHAM I., ALGAZI R., SCHEICHAH N., HARMELIN A., RAPAPORT E., NYSKA A., YAKABSON B.: Trzęsawka (scrapie) w Izraelu: zmiany chorobowe i aspekty epizootologiczne. (Scrapie in Israel: pathological findings and epizootological aspect). Israel. J. Vet. Med. 51, 59–61, 1996 (2)

Trzęsawka owiec jest przewlekłą zwyrodniającą chorobą układu nerwowego owiec, kóz i muflonów. W Izraelu pierwsze zachorowania na trzęsawkę wystąpiły w stadzie owiec liczącym 113 sztuk w okręgu Nazaret. Zachorowały dwie owce w wieku 2–3 lat wśród objawów świądu, zaburzeń koordynacji ruchów i wychudzenia pomimo dobrego apetytu. Zejście śmiertelne poprzedził paraliż. Rozpoznanie ustalono w oparciu o wywiad, objawy kliniczne i zmiany histopatologiczne, w których występowało charakterystyczne dla scrapie uszkodzenie neuronów śródmózgowia, mostu i rdzenia przedłużonego. Wszystkie zwierzęta w stadzie poddano ubojowi a zwłoki spalono.

PIRIZ S., HURTADO M. A., VALLE J., MATEAS E. M., MARTIN-PALOMINO P., VADILLOO S.: Badanie bakteriologiczne zanokcicy u świń: doniesienie wstępne. (Bacteriological study of footrot in pigs: a preliminary note). Vet. Rec. 139, 17–19, 1996 (1)

Badaniom poddano 11 przypadków klinicznych kulawizny u świń o różnym nasileniu. *Dichelobacter nodosus* wyizolowano ze zmian chorobowych od 6 osobników. Pięć izolatów *D. nodosus* należało do serotypu B, jeden do serotypu G (G1). Wszystkie izolaty były w pełni wrażliwe na antybiotyki β-laktamowe z wyjątkiem imipenu (MIC > 128 µg/ml), spiramycynę i rufloksacynę. Oprócz *D. nodosus* izolowano ze zmian chorobowych 5 szczepów *Prevotella melanogenica*, 3 *Peptostreptococcus*, 2 *Fusobacterium*, 2 *Porphyromonas*, 1 *Bacteroides* i 2 *Eubacterium*. *D. nodosus* i *P. melanogenica* cechowały się bardzo dużą aktywnością elastynolityczną i mogą być, zdaniem autorów pracy, przyczyną zanokcicy u świń.