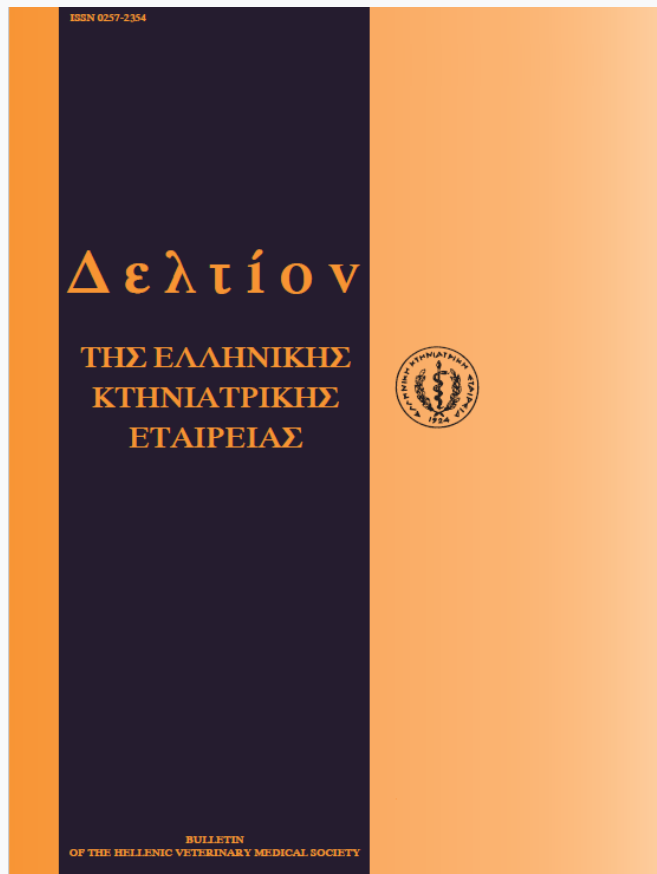


## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 50, No 4 (1999)



### Infection of fattening pigs by a virulent strain of Aujeszky's disease virus and its spread in the pig

S. K. KRITAS (Σ.Κ. ΚΡΗΤΑΣ), H. J. NAUWYNCK, M. B. PENZAERT, S. C. KYRIAKIS (Σ.Κ. ΚΥΡΙΑΚΗΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15727](https://doi.org/10.12681/jhvms.15727)

Copyright © 2018, SK KRITAS, HJ NAUWYNCK, MB PENZAERT, SC KYRIAKIS



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

#### To cite this article:

KRITAS (Σ.Κ. ΚΡΗΤΑΣ) S. K., NAUWYNCK, H. J., PENZAERT, M. B., & KYRIAKIS (Σ.Κ. ΚΥΡΙΑΚΗΣ) S. C. (2018). Infection of fattening pigs by a virulent strain of Aujeszky's disease virus and its spread in the pig. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 50(4), 310–314. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15727>

## Προσβολή παχυνόμενων χοίρων από ένα λοιμογόνο στέλεχος του ιού της νόσου Aujeszky και η εξάπλωσή του στον οργανισμό

Σ.Κ. Κρητάς<sup>1</sup>, Η.Ι. Nauwynck<sup>2</sup>, Μ.Β. Pensaert<sup>2</sup>, Σ.Κ. Κυριάκης<sup>3</sup>

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη εξάπλωσης του ιού της νόσου του Aujeszky στον οργανισμό των παχυνόμενων χοίρων και πώς αυτή η παράμετρος συνδέεται με την εμφάνιση σχετικών συμπτωμάτων. Τέσσερις παχυνόμενοι χοίροι χωρίς αντισώματα κατά του ιού ενοφθαλμίστηκαν στοματορινικώς με  $10^{7.5}$  TCID<sub>50</sub> του στελέχους 75V19, ενώ άλλοι τέσσερις παχυνόμενοι οροαρνητικοί χοίροι μολύνθηκαν με νέφος που περιείχε την ίδια δόση του λοιμογόνου στελέχους. Οι χοίροι θανατώθηκαν μετά από 4 ημέρες και τα ποσά του ιού στους ιστούς τους μετρήθηκαν σε καλλιέργειες κυττάρων. Τα αποτελέσματα έδειξαν εκτεταμένη εξάπλωση του ιού και στις δύο ομάδες χοίρων, όμως ο ρινικός και φαρυγγικός βλεννογόνος, οι διαφραγματικοί λοβοί και τα μακροφάγα κύτταρα του πνεύμονα ήταν εντονότερα προσβεβλημένοι στους χοίρους που μολύνθηκαν με εκνέφωση παρά σε αυτούς που μολύνθηκαν με ενστάλαξη. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε κάποια διαφορά μεταξύ των δύο τρόπων μόλυνσης σε ό,τι αφορά την κλινική εικόνα. Τα αποτελέσματα έδειξαν επίσης, ότι, παρ' ό,τι ο ιός μπορεί να αντιτυπώνεται σε αρκετά σημαντικό βαθμό στο ρινικό βλεννογόνο των παχυνόμενων χοίρων και να εισέρχεται στο ΚΝΣ των ζώων αυτών, η ένταση της αντιτύπωσής του στο νευρικό ιστό είναι περιορισμένη σε σύγκριση με τα νεαρότερα ζώα.

**Λέξεις ευρετηρίασης:** νόσος Aujeszky, παχυνόμενοι χοίροι.

**ABSTRACT.** Kritas S.K.<sup>1</sup>, Nauwynck H.J.<sup>2</sup>, Pensaert M.B.<sup>2</sup>, Kyriakis S.C.<sup>3</sup>. Infection of fattening pigs by a virulent strain of Aujeszky's disease virus and its spread in the pig. *Bulletin of the Hellenic Veterinary Medical Society* 1999, 50(4):310-314. In this paper, the spread of the virulent 75V19 strain of Aujeszky's disease virus (ADV) in fattening pigs has been examined, and the association of this parameter to the development of relative symptoms has been sought. Four fattening pigs without antibodies against ADV have been oronasally inoculated by instillation of  $10^{7.5}$  TCID<sub>50</sub> of the infective strain, whilst another four seronegative pigs have been infected by the same dose of the strain administered in aerosol form. The pigs were euthanised at 4 days post inoculation and their tissues were examined by virus isolation and quantification in cell cultures. An extended spread of the virus was seen with both inoculation methods. However, the nasopharyngeal mucosa, the diaphragmatic lobes of the lungs and the pulmonary macrophages were more extensively infected in aerosol inoculated pigs compared to those of the other group. No difference was observed as regards the appearance of clinical disease between the two groups of fattening pigs. The results have also shown that, despite the high replication rate of ADV in the nasal mucosa and its ability to invade the central nervous system of fattening pigs, the degree of its replication in the nervous tissue in these pigs is limited when compared to suckling pigs.

<sup>1</sup>Παθολογική Κλινική Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ΤΘ 199, 431 00 Καρδίτσα

<sup>2</sup>Laboratory of Virology Faculty of Veterinary Medicine, University of Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium,

<sup>3</sup>Κλινική Παθολογίας των Παραγωγικών Ζώων, Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης 540 06 Θεσσαλονίκη

<sup>1</sup>Clinic of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly, PO Box 199, Karditsa 431 00, Greece,

<sup>2</sup>Laboratory of Virology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Gent, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium,

<sup>3</sup>Clinic of Productive Animal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaloniki, Thessaloniki 540 06, Macedonia, Greece

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η νόσος του Aujeszky (NA) ή ψευδο λύσσα προκαλείται από το χοίρειο ερπητοϊό 1 (Suid herpesvirus 1) και χαρακτηρίζεται από οξεία και θανατηφόρα εγκεφαλίτιδα στα θηλάζοντα χοιρίδια, αναπνευστική νόσο στους παχυνόμενους χοίρους και αναπαραγωγικές ανωμαλίες στους γεννήτορες χοίρους.<sup>1</sup> Σε όλα τα άλλα είδη των ζώων ο ιός προκαλεί θανατηφόρα νευρική νόσο με μόνη ίσως εξαίρεση τα πρωτεύοντα θηλαστικά, τα οποία και δεν προσβάλλονται.<sup>1</sup> Ο ιός αυτός εμφανίζει σημαντική ομολογία

με τον ιό του απλού έρπητα του ανθρώπου.<sup>2,3</sup>

Στους παχυνόμενους χοίρους ο ιός προκαλεί φλεγμονή της αναπνευστικής οδού με απόπτωση του κροσσώτου επιθηλίου του βλεννογόνου της άνω αναπνευστικής οδού, καθώς και προσβολή των μακροφάγων κυττάρων του πνεύμονα.<sup>4,5,6</sup> Η κατάρρευση των δύο αυτών βασικών αμυντικών μηχανισμών έχει ως αποτέλεσμα την ευκολότερη πρόσβαση δευτερογενών παθογόνων στον πνεύμονα και την επιδείνωση της ήδη υπάρχουσας πνευμονίας. Παρ' ό- τι η ψευδολύσσα στους παχυνόμενους χοίρους έχει συν- δεθεί με την εκδήλωση αναπνευστικών συμπτωμάτων, λί- γα είναι γνωστά για την προσβολή άλλων οργάνων κατά την ηλικία αυτή. Έχουν αναφερθεί, αν και σπάνια, συ- μπτώματα νευρικής φύσεως κατά την πάχυνση.<sup>7</sup> Πολύ συ- χνά πάλι αναφέρεται η χαρακτηριστική στάση του "καθι- σμένου σκύλου" σε παχυνόμενους χοίρους που έχουν προ- σβληθεί από τον ιό<sup>1,8</sup>, η οποία πέρα από τη δύσπνοια που μπορεί να δηλώνει, θα μπορούσε να οφείλεται και σε προ- σβολή του νευρικού συστήματος.

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διε- ρεύνηση της εξάπλωσης και αντιτύπωσης του ιού της ΝΑ στον οργανισμό των παχυνόμενων χοίρων και πώς αυτές οι παράμετροι συνδέονται με την εμφάνιση σχετικών συ- μπτωμάτων. Ειδικότερα, για την καλύτερη κατανόηση της νευροπαθογένειας, η εξάπλωση του ιού στο νευρικό σύ- στημα των παχυνόμενων χοίρων συγκρίθηκε με αυτή σε θηλάζοντα χοιρίδια, τα οποία και συγκριτικώς είναι ιδι- αίτερα ευπαθή. Επειδή κατά τη φυσική λοίμωξη, η είσο-δος του ιού γίνεται από τη στοματορινική οδό συνήθως με τη μορφή αεροσταγονιδίων, για το λόγο αυτό στην πα- ρούσα εργασία μελετήθηκε η εξάπλωσή του ύστερα από δύο τρόπους αερογενούς ενοφθαλμισμού: με στοματορι- νική ενστάλαξη και με μορφή εκνέφωσης.

## ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκε το στέλεχος 75V19 του ιού της ΝΑ που απομονώθηκε το 1975 από μια εκτροφή στο Βέλγιο, στην οποία και παρατηρήθηκε έντονη κατά- πωση και αναπνευστικά προβλήματα στους παχυνόμε- νους χοίρους, νευρικά συμπτώματα στα νεαρά χοιρίδια και αποβολές στις σύες.<sup>9</sup> Για την πειραματική μόλυνση χρησι- μοποιήθηκε η 2η δίοδος του στελέχους σε κυτταρική σει- ρά ST (όρχεων χοίρου). Ο πειραματισμός έγινε σε ειδικές εγκαταστάσεις βιολογικής ασφαλείας του Τμήματος Κτη- νιατρικής του Πανεπιστημίου της Γάνδης στο Βέλγιο.

Δώδεκα χοίροι ηλικίας 22 εβδομάδων της φυλής Belgian Landrace και χωρίς αντισώματα κατά του ιού της ΝΑ, χωρίστηκαν σε τρεις ισομερείς ομάδες, που σταβλί- στηκαν η καθεμία σε διαφορετικό θάλαμο. Οι χοίροι της πρώτης ομάδας ενοφθαλμίστηκαν με 5 ml διαλύματος που περιείχε  $10^{7.5}$  TCID<sub>50</sub> του ιού, 2 ml στο στόμα και 1,5 ml σε κάθε ρουθούνι. Οι χοίροι της δεύτερης ομάδας ενοφθαλ-

μίστηκαν ατομικά με τον ακόλουθο τρόπο: αφού έλαβε ο καθένας ως ηρεμιστικό azaperone, στη συνέχεια εγκλω- βίστηκε σε ειδικό ορθογώνιο κλειστό κλουβί από plexiglass όγκου 900 L όπου και παρέμεινε για χρονικό διάστημα 30 min. Στο πρόσθιο μέρος του κλουβιού διοχε- τεύονταν από οπή, με ειδική συσκευή, νέφος που περιείχε το λοιμογόνο στέλεχος. Με βάση το ποσό του εναιωρήμα- τος που εκνεφώθηκε και τον όγκο του εισπνεόμενου αέ- ρα (360 L) υπολογίστηκε ότι ο κάθε χοίρος ενοφθαλμί- στηκε περίπου με  $10^{7.5}$  TCID<sub>50</sub> του ιού. Οι χοίροι της τρί- της ομάδας δεν υπέστησαν κάποια μεταχείριση και απο- τέλεσαν τους αρνητικούς μάρτυρες.

Τρία ακόμη χοιρίδια ηλικίας 2 εβδομάδων της ίδιας φυλής και χωρίς αντισώματα κατά του ιού της ΝΑ, ενο- φθαλμίστηκαν στοματορινικώς με  $10^{7.5}$  TCID<sub>50</sub> του ιού, με μέθοδο παρόμοια με αυτή των χοίρων της πρώτης ομάδας και παρέμειναν σε ένα τέταρτο ξεχωριστό θάλαμο.

Οι χοίροι παρατηρούνταν καθημερινά για εμφάνιση συμπτωμάτων και θανατώθηκαν, πλην των αρνητικών μαρτύρων, 4 ημέρες μετά τη μόλυνση. Προκειμένου να γί- νει απομόνωση και τιτλοποίηση του ιού συλλέχθηκαν τα ακόλουθα δείγματα: ρινικός βλεννογόνος (αναπνευστική και οσφρητική μοίρα), φαρυγγικός βλεννογόνος (ρινική μοίρα), αμυγδαλές της μαλακής υπερώας, πνεύμονες (πρόσθιος, μέσος και οπίσθιος λοβός), μέσα τραχειο- βρογχικά και έσω οπισθοφαρυγγικά λεμφογάγγλια, άνω γναθικό νεύρο, γάγγλιο του Gasser, οσφρητικός βολβός, φλοιός των εγκεφαλικών και παρεγκεφαλιδικών ημι- σφαιρίων, γέφυρα, προμήκης μυελός, σπλήνας, νεφροί, μήτρα. Επίσης συλλέχθηκε εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY), κόπρανα, μονοπύρηνια κύτταρα του αίματος και μακρο- φάγια κύτταρα του πνεύμονα.

Για την απομόνωση του ιού από τους ιστούς έγιναν ε- ναιωρήματά τους 20% σε PBS (phosphate buffered saline). Μετά τη φυγοκέντρηση των εναιωρημάτων στις 3.000 στροφές/min σε ψύξη, συλλέχθηκε το υπερκείμενο υγρό από το οποίο και ενοφθαλμίστηκαν 0,1 ml σε καθένα από τους 4 σωλήνες με κύτταρα ST. Οι κυτταροκαλιέργειες πα- ρακολογήθηκαν για 5 ημέρες για ανίχνευση κυτταροπα- θογόνου δράσης. Για την τιτλοποίηση του ιού έγιναν δε- καπλές αραιώσεις του αρχικού υπερκείμενου υγρού, ενο- φθαλμίστηκαν σε κύτταρα ST και ο τίτλος υπολογίστηκε με τη μέθοδο Reed-Muench.

Η μέθοδος απομόνωσης και τιτλοποίησης του ιού για τα πνευμονικά μακροφάγα και τα μονοπύρηνια κύτταρα του αίματος ήταν ουσιαστικά η ίδια με αυτή που περιγρά- φηκε παραπάνω, αφού όμως πρώτα έγινε διαχωρισμός των κυττάρων αυτών με ειδικές μεθόδους. Τα μακροφά- γα κύτταρα του αίματος λήφθηκαν μετά από έκπλυση πνευμονικού ιστού (έγχυση υγρού, αναρρόφηση και φυ- γοκέντρηση), ενώ τα μονοπύρηνια του αίματος απομονώ-θηκαν με τη μέθοδο Ficoll-Paque (Pharmacia, Uppsala, Sweden), όπως περιγράφεται αναλυτικότερα από τους

**Πίνακας 1.** Ποσότητες ιού της νόσου του Αujeszky σε ιστούς παχυνόμενων χοίρων 4 ημέρες μετά από ενοφθαλμισμό με στοματοροινική ενστάλαξη ή εκνέφωση.

Λείγματα	Απομόνωση ιού από ιστούς παχυνόμενων χοίρων			
	Στοματοροινική ενστάλαξη		Εκνέφωση	
	Θετικά δείγματα	Τίτλος ιού* ± τυπικό σφάλμα	Θετικά δείγματα	Τίτλος ιού* ± τυπικό σφάλμα
Ρινικός (αναπν.) βλεννογόνος	4	5,50 <sup>a</sup> ± 0,22	4	6,75 <sup>b</sup> ± 0,18
Οσφρητικός βλεννογόνος	4	5,60 <sup>a</sup> ± 0,17	4	5,70 <sup>a</sup> ± 0,21
Φαρυγγικός βλεννογόνος	4	3,00 <sup>a</sup> ± 0,52	4	7,15 <sup>b</sup> ± 0,35
Αμυγδαλές μαλακής υπερώας	4	6,60 <sup>a</sup> ± 0,13	4	6,30 <sup>a</sup> ± 0,21
Πνεύμονες (πρόσθιος λοβός)	4	2,82 <sup>a</sup> ± 0,60	4	4,17 <sup>a</sup> ± 0,38
Πνεύμονες (μέσος λοβός)	4	6,25 <sup>a</sup> ± 0,11	4	5,80 <sup>a</sup> ± 0,24
Πνεύμονες (οπίσθιος λοβός)	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	4	4,70 <sup>b</sup> ± 0,29
Πνευμονικά μακροφάγα	1	0,62 <sup>a</sup> ± 0,62	4	1,90 <sup>a</sup> ± 0,18
Μέσο τραχειοβρογχικό λεμφογ.	4	2,20 <sup>a</sup> ± 0,33	4	2,60 <sup>a</sup> ± 0,29
Εσω οπισθοφαρυγγικό λεμφογ.	4	5,60 <sup>a</sup> ± 0,18	4	5,75 <sup>a</sup> ± 0,21
Ανω γναθικό νεύρο	4	2,30 <sup>a</sup> ± 0,13	3	1,53 <sup>a</sup> ± 0,54
Τριδύμο γάγγλιο (Gasser)	4	4,25 <sup>a</sup> ± 0,14	4	3,20 <sup>a</sup> ± 0,48
Οσφρητικός βολβός	4	2,80 <sup>a</sup> ± 0,44	4	2,25 <sup>a</sup> ± 0,47
Γέφυρα	4	2,20 <sup>a</sup> ± 0,12	4	1,60 <sup>a</sup> ± 0,70
Προμήκης μυελός	4	1,25 <sup>a</sup> ± 0,15	2	0,55 <sup>a</sup> ± 0,31
Παρεγκεφαλίδα	1	0,27 <sup>a</sup> ± 0,27	3	1,10 <sup>a</sup> ± 0,40
Εγκεφαλικά ημισφαίρια (φλοιός)	4	3,60 <sup>a</sup> ± 0,29	3	2,05 <sup>a</sup> ± 0,86
Εγκεφαλονωτιαίο υγρό	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00
Μονοπύρηνα αίματος	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00
Σπλήνας	2	0,70 <sup>a</sup> ± 0,40	2	0,55 <sup>a</sup> ± 0,31
Νεφροί	1	0,28 <sup>a</sup> ± 0,28	1	0,28 <sup>a</sup> ± 0,28
Μήτρα	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00
Κόπρανα	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00	0	0,00 <sup>a</sup> ± 0,00

\* Οι ποσότητες του ιού εκφράζονται σε log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub>/g ιστού (ή / 2X10<sup>7</sup> πνευμονικών ή μονοπύρηνων κυττάρων) και αποτελούν τον αριθμητικό μέσο τίτλο (AMT) των 4 χοίρων της κάθε ομάδας

<sup>a,b</sup> Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά (P<0,05)

Nauwynck and Pensaert.<sup>10</sup>

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη μέθοδο Student t test του συστήματος SAS (Version 6.12 for Windows, 1996; No:84912001/SAS Institute Inc. Cary, NY 27513, USA) που είναι εγκατεστημένο στην Κλινική Παθολογίας των Παραγωγικών Ζώων του ΑΠΘ.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Κλινικά ευρήματα

Οι παχυνόμενοι χοίροι που μολύνθηκαν με ενστάλαξη εμφάνισαν, μετά τη 2η ημέρα, ρινικό έκκριμα, ελαφρή δύσπνοια, ανορεξία, απροθυμία για μετακίνηση και τάση για κατάκλιση ή κάθισμα στα πίσω άκρα ("κάθισμα σκύλου"). Δύο από τους χοίρους εμφάνισαν πυρετό από την 1η ημέρα μετά τον ενοφθαλμισμό, ενώ οι άλλοι δύο από τη 2η ημέρα μετά τον ενοφθαλμισμό. Παρόμοια γενική ή-

ταν και η κλινική εικόνα των παχυνόμενων χοίρων που μολύνθηκαν με εκνέφωση. Αντιθέτως, οι αρνητικοί μάρτυρες δεν παρουσίασαν κάποιο σύμπτωμα.

Στα θηλάζοντα χοιρίδια αρχικά παρουσιάστηκε παρμός, ρινικό έκκριμα, και ως τη 2η ημέρα μετά τον ενοφθαλμισμό, δύσπνοια, ανορεξία και σιελορροια. Από την 3η ημέρα τα χοιρίδια παρουσίασαν έμετο, ασταθές βάδισμα, "κάθισμα σκύλου", παρορμητικές κινήσεις (συνεχές ρουθούνισμα με το κεφάλι προς το έδαφος και βάδισμα προς τα πίσω). Τέλος τα ζώα εμφάνισαν σπασμική παραπληγία, ιδιόμορφες κλονικές μυϊκές συσπάσεις (κινήσεις μάσησης και ποδηλατισμού) και κόμα. Την 1η-2η ημέρα μετά την προσβολή παρατηρήθηκε άνοδος της θερμοκρασίας του σώματος, που διατηρήθηκε μέχρι την εμφάνιση του κόματος, οπότε και στη συνέχεια έπεσε κάτω από τα φυσιολογικά επίπεδα (υποθερμία).

**Πίνακας 2.** Ποσότητες ιού της νόσου Αujeszky σε ιστούς θηλαζόντων και παχυνόμενων χοίρων 4 ημέρες μετά από ενοφθαλμισμό με στοματορινική ενστάλαξη.

Δείγματα	Ποσότητες ιού* ( $\pm$ τυπικό σφάλμα) σε ιστούς χοίρων	
	Παχυνόμενοι	Θηλαζόντες
Ρινικός (αναπν.) βλεννογόνος	5,50 <sup>a</sup> $\pm$ 0,22	7,60 <sup>b</sup> $\pm$ 0,23
Οσφρητικός βλεννογόνος	5,60 <sup>a</sup> $\pm$ 0,17	6,30 <sup>a</sup> $\pm$ 0,32
Τρίδυμο γάγγλιο (Gasser)	4,25 <sup>a</sup> $\pm$ 0,14	6,80 <sup>b</sup> $\pm$ 0,20
Οσφρητικός βολβός	2,80 <sup>a</sup> $\pm$ 0,44	5,33 <sup>b</sup> $\pm$ 0,28
Προμήκης μυελός	1,25 <sup>a</sup> $\pm$ 0,15	5,47 <sup>b</sup> $\pm$ 0,17
Γέφυρα	2,20 <sup>a</sup> $\pm$ 0,12	5,20 <sup>b</sup> $\pm$ 0,15
Παρεγκεφαλίδα	0,27 <sup>a</sup> $\pm$ 0,27	4,93 <sup>b</sup> $\pm$ 0,23
Εγκεφαλικά ημισφαίρια	3,60 <sup>a</sup> $\pm$ 0,29	4,93 <sup>b</sup> $\pm$ 0,27

\* Οι ποσότητες του ιού εκφράζονται σε  $\log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/g ιστού και αποτελούν τον αριθμητικό μέσο τίτλο (AMT) των 4 και 3 ζώων της ομάδας των παχυνόμενων και θηλαζόντων χοίρων αντίστοιχα

<sup>a, b</sup> Διαφορετικοί εκθέτες στην ίδια σειρά δηλώνουν στατιστικά σημαντική διαφορά ( $P < 0,05$ )

### Απομόνωση ιού από ιστούς

Τα αποτελέσματα της απομόνωσης και τιτλοποίησης του ιού από τους ιστούς των μολυσμένων παχυνόμενων χοίρων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Οι ποσότητες του ιού στις πρωτογενείς περιοχές αντιτύπωσης του ιού (βλεννογόνοι στοματορινικής χώρας και αμυγδαλές) ήταν αρκετά υψηλές και στις δύο ομάδες των ενοφθαλμισμένων παχυνόμενων χοίρων, σημαντικά όμως υψηλότερες ήταν στο ρινικό και φαρυγγικό βλεννογόνο των χοίρων που μολύνθηκαν με εκνέφωση ( $P < 0,05$ ).

Σε ό,τι αφορά το αναπνευστικό σύστημα, ο ιός απομονώθηκε από όλους τους λοβούς των πνευμόνων των χοίρων της δεύτερης ομάδας (εκνέφωση), όχι όμως και από τους χοίρους της πρώτης ομάδας, οι διαφραγματικοί λοβοί των οποίων δεν περιείχαν ιό ( $P < 0,05$ ). Μολυσμένα μακροφάγα κύτταρα βρέθηκαν στους πνεύμονες όλων των χοίρων που μολύνθηκαν με εκνέφωση αλλά μόνο σε ένα χοίρο της πρώτης ομάδας.

Σε ό,τι αφορά το νευρικό σύστημα, δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων που ενοφθαλμίστηκαν με τον ιό. Ο ιός διείσδυσε στον οσφρητικό βολβό και τη γέφυρα σε όλα τα ζώα των δύο πρώτων ομάδων, ενώ στο υπόλοιπο ΚΝΣ σε μικρότερο αριθμό ζώων. Οι τίτλοι του ιού στο νευρικό σύστημα κυμαίνονταν γενικά σε χαμηλά επίπεδα.

Ιός δεν βρέθηκε στο ΕΝΥ, μονοπύρηνια κύτταρα του αίματος, μήτρα, κόπρανα, ενώ βρέθηκε σε μικρά μόνο ποσά στο σπλήνα και τους νεφρούς ορισμένων μόνο ζώων από κάθε ομάδα.

Σύγκριση των χοίρων της πρώτης ομάδας με νεαρότερους που ενοφθαλμίστηκαν πανομοιότυπα (Πίνακας 2) έδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές τόσο στο ρινικό βλεννογόνο, κυρίως όμως στο νευρικό ιστό όπου οι τίτλοι

των παχυνόμενων ήταν περίπου 2 με 4,5  $\log_{10}$  χαμηλότεροι από αυτούς των θηλαζόντων.

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη έγινε σύγκριση της εξάπλωσης του ιού της ΝΑ μετά από δύο διαφορετικούς τρόπους μόλυνσης. Ιδιαίτερα έντονη ήταν η προσβολή των πρωτογενών περιοχών αντιτύπωσης μετά από εκνέφωση του ιού, κάτι που θα μπορούσε να εξηγηθεί από την εκτενέστερη διασπορά που είχε το νέφος στο επιθήλιο των περιοχών αυτών σε σχέση με την περισσότερη εντοπισμένη επαφή του χορηγούμενου με ενστάλαξη ενοφθαλμίσματος. Μια άλλη βασική διαφορά μεταξύ των δύο τρόπων μόλυνσης ήταν η παρουσία ιού στους διαφραγματικούς λοβούς των πνευμόνων μετά από εκνέφωση, ενώ μετά από ενστάλαξη, αυτός απουσίαζε από τους οπίσθιους λοβούς. Η πιο πιθανή εξήγηση για το εύρημα αυτό είναι ότι το νέφος διεισδύει και επικάθεται σε όλα τα σημεία του αναπνευστικού σωλήνα και στην περίπτωση που τα μικροσταγονίδια του έχουν διάμετρο από 3-10  $\mu\text{m}$  μπορούν να διαπεράσουν τη διακλάδωση της τραχείας και τους στελεχιαίους βρόγχους και να φτάσουν στους οπίσθιους λοβούς του πνεύμονα. Αντίθετα, ο ιός που χορηγείται με ενστάλαξη πρέπει πρώτα να πολλαπλασιαστεί τοπικά στις περιοχές πρωτογενούς αντιτύπωσης και μόνο μετά να εισέλθει στην κατώτερη αναπνευστική οδό. Το γεγονός άλλωστε ότι ο ιός δεν ανιχνεύθηκε στα πνευμονικά μακροφάγα των περισσότερων χοίρων που ενοφθαλμίστηκαν με ενστάλαξη, οφείλεται πιθανότερα στο ότι, κατά την τεχνική έκπλυση των πνευμόνων, το υγρό που εγχέεται στον πνεύμονα λόγω βαρύτητας εναποτίθεται κυρίως στους διαφραγματικούς λοβούς όπου και δεν υπάρχει μόλυνση, με αποτέλεσμα, όταν επανασυλλέγεται, να μην περιέχει μολυσμένα μακροφάγα. Σε ό,τι αφορά τα παραπάνω σημεία που συζητήθη-

καν, αξίζει να σημειωθεί ότι η εξάπλωση του ιού μετά από φυσική μόλυνση μοιάζει περισσότερο με αυτή που προκύπτει από ενστάλαξη και όχι με αυτή που προκύπτει από ενέφωση, κάτι που επιβεβαιώνει παλαιότερη παρατήρηση του Baskerville.<sup>4,5</sup> Έτσι κάτω από συνθήκες εκτροφής η μετάδοση του ιού μεταξύ των παχυνόμενων χοίρων γίνεται πιθανότερα με την εναπόθεση μεγαλύτερων σταγονιδίων στο ρινικό βλεννογόνο και όχι με εισπνοή μικροσταγονιδίων.

Διαφορές σε ό,τι αφορά την κλινική εικόνα δε στάθηκε δυνατό να εντοπιστούν μεταξύ των δύο διαφορετικών τρόπων μόλυνσης παρά τις διαφορές που παρατηρήθηκαν στην εξάπλωση. Σίγουρα η έντονη αντιτύπωση και, λογικά συμπεραίνοντας, η αυξημένη καταστροφή του αναπνευστικού επιθηλίου θα μπορούσε να δικαιολογήσει τα αναπνευστικά συμπτώματα που περιγράφηκαν στην παρούσα μελέτη. Ερωτηματικά όμως παραμένουν για το αν η περιορισμένη προσβολή του ΚΝΣ θα μπορούσε να θεωρηθεί υπεύθυνη για τη γενικότερη απάθεια των ζώων, την τάση τους για κατάκλιση ή το κάθισμα στα πίσω άκρα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο ιός μπορεί και αντιτυπώνεται σε αρκετά σημαντικό βαθμό στο ρινικό βλεννογόνο των παχυνόμενων χοίρων και μπορεί ακόμα να εισέρχεται στο ΚΝΣ των ζώων αυτών. Όμως, συγκριτικώς με τα νεαρότερα ζώα, υπήρχε καταφανώς περιορισμένη αντιτύπωση του ιού στο νευρικό ιστό των μεγαλύτερων σε ηλικία ζώων. Οι λόγοι αυτής της συγκριτικώς μικρότερης αντιτύπωσης δεν μπόρεσαν να διευκρινιστούν στη μελέτη αυτή. Πάντως είναι λογικό ότι η παρουσία τόσο χαμηλών ποσών ιού σε ιστούς όπως η γέφυρα και ο προμήκης μυελός ( $2,2 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/g ιστού) ή ο οσφρητικός βολβός ( $2,8 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/g ιστού) δεν δικαιολογούν την ύπαρξη εμφανών νευρικών συμπτωμάτων, δεδομένου ότι προγενέστερες μελέτες έδειξαν ότι τα νευρικά συμπτώματα απουσιάζουν ακόμα και σε χοιρίδια με τίτλους  $3 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/g ιστού στη γέφυρα και τον προμήκη μυελό ή με  $4,5 \log_{10}$  TCID<sub>50</sub>/g οσφρητικού βολβού.<sup>11,12</sup>

Τέλος, τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν φαίνεται να δείχνουν ότι, για διαγνωστικούς σκοπούς, οι ιστοί (και τα λεμφογάγγλια) του αναπνευστικού συστήματος και ορισμένοι του νευρικού συστήματος (γάγγλιο Gasser, οσφρητικός βολβός, γέφυρα) αποτελούν ενδεικνυόμενα δείγματα για απομόνωση ιού από παχυνόμενους χοίρους σε αντίθεση με άλλα (αίμα, σπλήνας, νεφροί, μήτρα, κόπρανα κλπ).

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Pensaert MB, Kluge JP. Pseudorabies virus (Aujeszky's disease). In: Virus infections of vertebrates (Vol 2) Virus infections of porcines, 1st ed, Elsevier science publishers BV, Amsterdam-Oxford-New York-Tokyo, 1989:37-64.
2. Mettenleiter TC. Molecular biology of pseudorabies (Aujeszky's disease) virus. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 1991, 14:151-163.
3. Mettenleiter TC. Review: Pseudorabies (Aujeszky's disease) virus: state of the art, August 1993. *Acta Vet Hung* 1994, 42:153-177.
4. Baskerville A. The histopathology of pneumonia produced by aerosol infection of pigs with a strain of Aujeszky's disease virus. *Res Vet Sci* 1971, 12:590-592.
5. Baskerville A. The histopathology of experimental pneumonia in pigs produced by Aujeszky's disease virus. *Res Vet Sci* 1973, 14:223-228.
6. Baskerville A, McCracken RM, McFerran JB. The histopathology of experimental rhinitis in pigs produced by a strain of Aujeszky's disease virus, *Res Vet Sci* 1971, 12:323-326.
7. McFerran JB, Dow C. Studies on immunisation of pigs with the Bartha strain of Aujeszky's disease virus. *Res Vet Sci* 1975, 19:17-22.
8. Pensaert MB, Nauwynck H, De Smet K, 1992. Pathogenetic features of pseudorabies virus infection in swine with implications to control. Proceedings of the First International Symposium on Eradication of Pseudorabies (Aujeszky's) virus. Published by the University of Minnesota, St. Paul, Minnesota, USA, p. 1-16.
9. Andries K, Pensaert MB, Vandeputte J. Effect of experimental infection with pseudorabies (Aujeszky's disease) virus in pigs with maternal immunity from vaccinated sows. *Am J Vet Res* 1978, 39:1282-1285.
10. Nauwynck HJ, Pensaert MB. Abortion induced by cell-associated Aujeszky's disease virus in vaccinated sows. *Am J Vet Res* 1992, 53:489-493.
11. Kritas SK, Pensaert MB, Mettenleiter TC. Invasion and spread of single glycoprotein deleted mutants of Aujeszky's disease virus (ADV) in the trigeminal nervous pathway of pigs after intrasacral inoculation. *Vet Microbiol* 1994, 40:323-334.
12. Kritas SK, Pensaert MB, Mettenleiter TC. Role of envelope glycoproteins gI, gp63 and gIII in the invasion and spread of Aujeszky's disease virus in the olfactory nervous pathway of the pig. *J Gen Virol* 1994, 75:2319-2327.