Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 19, No 1-2 (1968)

ΑΠΟΜΟΝΩΣΙΣ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΙΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΡΙΝΟΤΡΑΧΕΙΠΤΙΔΟΣ ΤΩΝ ΒΟΟΕΙΔΩΝ (ΛΡΒ) ΕΝ ΕΛΛΑΔΙ

Π. ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ, Ι. ΚΑΡΔΑΣΗΣ

doi: [10.12681/jhvms.19952](https://doi.org/10.12681/jhvms.19952)

Copyright © 2019, Π.ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ Ι.ΚΑΡΔΑΣΗΣ

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

To cite this article:

ΣΤΟΥΡΑΪΤΗΣ Π., & ΚΑΡΔΑΣΗΣ Ι. (1968). ΑΠΟΜΟΝΩΣΙΣ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΙΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΡΙΝΟΤΡΑΧΕΙΠΤΙΔΟΣ ΤΩΝ ΒΟΟΕΙΔΩΝ (ΛΡΒ) ΕΝ ΕΛΛΑΔΙ. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 19(1-2), 66–70. <https://doi.org/10.12681/jhvms.19952>

ΑΠΟΜΟΝΩΣΙΣ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΙΣ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΗΣ ΛΟΙΜΩΔΟΥΣ ΡΙ- ΝΟΤΡΑΧΕΙΤΙΔΟΣ ΤΩΝ ΒΟΘΕΙΔΩΝ (ΛΡΒ) ΕΝ ΕΛΛΑΔΙ

(Πρόδρομος 'Ανακοίνωσις).

Υ π ο

Π. ΣΤΟΥΡΑ-Ι.ΤΗ ΚΑΙ Ι. ΚΑΡΔΑΣΗ

(Ίνστιτουτον 'Αφθώδους Πυρετού - 'Αγία Παρασκευή - 'Αττικής)

Ἡ ΛΡΒ, γνωστή διεθνῶς ὑπὸ τὰ ἀρχικὰ τῆς Ἀγγλικῆς αὐτῆς ὀνομασίας IBR-IPV (Infectious Bovine Rhinotracheitis-Infectious Pustular Vulvovaginitis), ἀποτελεῖ νόσον προσφάτου σχετικῶς περιγραφῆς (Schroeder καὶ Moys (') 1954), τῆς ὁποίας ἡ ὑπαρξίς δὲν ἔχει εἰσέτι διαπιστωθῇ ἐν Ἑλλάδι. Οὐχ' ἦτον ὅμως, καθ' ἃ ἐκ πείρας γνωρίζομεν, ἡ γεννητικὴ μορφή τῆς νόσου, γνωστὴ σήμερον ὡς Λοιμῶδης Φλυκταίνωδης Αἰδιο-κολπίτις, ὀφειλομένη εἰς τὸν αὐτὸν αἰτιολογικὸν παράγοντα (ἰόν), εἶναι εὐρέως διαδεδομένη ἐν τῇ χώρᾳ μας. Ὡσαύτως θεωρεῖται βέβαιον ὅτι περιπτώσεις ΛΡΒ, χαρακτηριζόμεναι κυρίως ὑπὸ ὑπερπυρεξίας καὶ ἀναπνευστικῶν φαινομένων, ἔχουσιν ἀσφαλῶς διαπιστωθῇ κατὰ τὸ παρελθόν, ἰδίᾳ ἐπὶ εἰσαγομένων πρὸς πάχυνσιν μόσχων καὶ ἐπὶ ἀγελάδων ἀκόμη, πλὴν ὅμως αἱ περιπτώσεις αὗται ἀπεδίδοντο εἰς διάφορα αἷτια καὶ ἰδιαιτέρως εἰς μικροοργανισμοὺς τοῦ γένους Παστερέλλα, οἵτινες, μέχρι τίνος, ἔθεωροῦντο ὡς μόνοι σχεδὸν ὑπεύθυνοι τῆς «Νόσου τῆς Μεταφορᾶς» (Shipping Fever). Ἐπίσης ἐγκεφαλίτιδες καὶ ἰδίᾳ πνευμονίαι ἐπὶ νεογεννῆτων μόσχων συχνάκις ὀφείλονται εἰς τὸν ἰὸν τῆς ρινοτραχειίτιδος.

Κατὰ μῆνα Μάϊον 1968, ἐδόθη ἡμῖν ἡ εὐκαιρία νὰ μελετήσωμεν ἐμπύρετον ἀναπνευστικὴν νόσον, συνοδευομένην καὶ ὑπὸ στοματικῶν ἀλλοιώσεων, ἐκδηλωθεῖσαν ἐπὶ μόσχων, ἄρτι εἰσαχθέντων ἐξ ὁμοῦ χώρας, πρὸς πάχυνσιν.

Τὰ ἐκ τῆς ἐργαστηριακῆς ἡμῶν ἐρεῦνης προκύψαντα πορίσματα προτιθέμεθα νὰ ἐκθέσωμεν ἐνταῦθα ἐν συντομίᾳ, μὲ σκοπὸν νὰ ἐπανέλθωμεν ἀναλυτικώτερον ἐπὶ τοῦ θέματος βραδύτερον.

ΙΣΤΟΡΙΚΟΝ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Συμφώνως πρὸς τὰ παρασχεθέντα ἡμῖν στοιχεῖα, τὴν 24-4-1968 διήλθον διὰ τοῦ Λοιμοκαθαρτηρίου Ζῶων Εἰδομένης 31 μόσχοι, μιγάδες Simmenthal, ἡλικίας ἀπὸ 6—8 μηνῶν, προοριζόμενοι πρὸς πάχυνσιν.

(1) J. Am vet. med. Ass., 1954, 125, 471.

Περὶ τὴν 15ην ἡμέραν ἀπὸ τῆς ἀφίξεως τῶν ζώων εἰς τὸν προορισμόν των, 12 ἐκ τούτων ἐξεδήλωσαν ὑψηλὸν πυρετὸν ($40^{\circ}\text{-}42^{\circ}$), σιελόρροϊαν, δακρύρροϊαν, βῆχα καὶ δύσπνοϊαν. Πέντε ἐκ τῶν ἀσθενῶν ζώων ἐνεφάνισαν «ἐξάνθημα καὶ φλυκταίνας ἐπὶ τῶν χειλέων καὶ ἐντὸς τῆς στοματικῆς κοιλότητος». Ἐν ζῶον ἔθανε «μὲ συμπτώματα αἱμορραγικῆς διαρροίας».

Κατὰ τὰς ἐπομένους ἡμέρας, ἡσθένησαν 11 ζῶα τῆς αὐτῆς ἀποστολῆς καὶ μὲ τὰ αὐτὰ συμπτώματα. Κατὰ δήλωσιν τοῦ ἰδιοκτῆτου, ἡ νόσος δὲν ἐπεξετάθη εἰς τὰ παλαιὰ ζῶα τῆς ἐκτροφῆς, εἰς ἃ περιελαμβάνοντο καὶ ἐξηυγενισμένοι ἀγελάδες καὶ μόσχοι, φυλῆς Φριςλανδίας καὶ Schwytz.

Ἐκτὸς τοῦ μόσχου, ὅστις πιθανῶς ἔθανεν ἐκ τῆς νόσου, τὰ ὑπόλοιπα ἀσθενῆ ζῶα ἰάθησαν ἐν διαστήματι 8-10 ἡμερῶν.

Κατὰ τὴν ἐπιτόπιον ἐξέτασιν τῶν ζώων ὑφ' ἐνὸς ἐξ ἡμῶν (τὴν 5-6-1968), ἀπαντα τὰ ἀσθενήσαντα ζῶα εἶχον πλήρως ἀναρρώσει. Ἐπὶ ἐνὸς μόνον μόσχου διεπιστώθησαν μικραὶ ἐφελκίδες, μεγέθους καὶ χροίᾳς κόκκου φακῆς, ἐπὶ τοῦ ἄνω χείλους καὶ τοῦ ἀκρορρινίου.

ΔΗΦΘΕΝΤΑ ΠΡΟΣ ΕΞΕΤΑΣΙΝ ΥΛΙΚΑ

Ἐκ τῶν ἀσθενησάντων ζώων ἐλήφθησαν πρὸς ἐξέτασιν τὰ ἑξῆς ὕλικά:

α) Αἷμα ἐκ πυρέσσοντος ζώου (Θ^ο 40, 7),

β) Αἷμα ἐκ τοῦ αὐτοῦ ζώου, 20 ἡμέρας μετὰ τὴν ἰασίν του (πρὸς λήψιν ὁροῦ).

γ) Ἐφελκίδες ἐκ τῶν ἀλλοιώσεων τῶν χειλέων καὶ τῆς στοματικῆς κοιλότητος, δι' ὧν ἀπεκλείσθη ὁ Ἀφθώδης Πυρετός, δι' ἐκτροφῆς τοῦ συμπληρώματος καὶ δι' ἐνοφθαλμισμού τῶν ὑλικῶν εἰς νεογεννήτους λευκόμυας καὶ κυτταροκαλλιέργειας.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Ἡ ἐν τῷ Ἐργαστηρίῳ διεξαχθεῖσα ἐν συνεχείᾳ ἔρευνα ἐπὶ τῶν ὡς ἄνω ὑλικῶν συνίστατο: α) εἰς ἀνίχνευσιν τοῦ ἐν τῷ αἵματι τοῦ πυρέσσοντος ζώου καὶ εἰς τὰς ἐφελκίδας, β) εἰς ἀνίχνευσιν ὁροεξουδετερωτικῶν ἀντισωμάτων ἐντὸς τοῦ ὁροῦ τοῦ ἰαθέντος ζώου, καὶ γ) εἰς πειραματικὴν ἀναπαραγωγὴν τῆς νόσου.

I. ΑΝΙΧΝΕΥΣΙΣ ΙΟΥ

Διὰ τὴν ἀνίχνευσιν τοῦ εἰς τὸ αἷμα καὶ τὰς ἐφελκίδας ἐχρησιμοποιήθησαν κυτταροκαλλιέργειαι κυττάρων ὄρχεως καὶ νεφρῶν μόσχου, παρασκευασθεῖσαι κατὰ τὰ γνωστὰ δεδομένα διὰ τὴν καλλιέργειαν τοῦ τοῦ Ἀφθώδους Πυρετοῦ. Ὡς ὑλικὸν συντηρήσεως

έχρησιμοποιήθη EARLE B. M. έμπλουτισθέν διά λακταλβουμίνης (0,5%), άνευ όρου, pH 7,4-7-5. "Έκαστον φιαλίδιον BROCKWAY, έφ' ού ειχεν άναπτυχθή πλήρες κυτταρικών ταπήτιον, ένωφθαλμίζετο δι' 1 ml ύλικου έφελκίδων (μετά λειοτρίβησιν και φυγοκέντρησιν) ή δι' αίματος (1 ml). Μετά προσρόφησιν επί 30' περίπου και έκπλυσιν του ταπήτιου, προσετίθετο τó ύλικόν συντηρήσεως. Αί καλλιέργειαι, τοποθετούμεναι έν κλιβάνω όριζοντίως, ήλέγχοντο καθ' έκαστην πρός διαπίστωσιν έμφανίσεως κυτταρικών άλλοιώσεων, ένδεικτικών της κυτταροπαθογόνου δράσεως του ίου.

Αποτελέσματα. Αί δι' ύλικου έφελκίδων ένοφθαλμισθεισαι κυτταροκαλλιέργειαι ουδεμίαν άλλοίωσιν παρουσίασαν μέχρι και την 8ην ήμέραν και εις τρεις διαδοχικάς διόδους. 'Απ' έναντίας, εις τās δι' αίματος ένοφθαλμισθεισας καλλιέργειας, την 7ην ήμέραν κατά την πρώτην διόδον και άπό της 3ης ήμέρας κατά τās έπομένας διόδους, παρετηρήθησαν σαφείς κυτταρολογικαί άλλοιώσεις, ως κύτταρα διογκωμένα, σφαιρικά, στιλπνά, συνηνωμένα δίκην σταφυλῆς, με πρωτόπλασμα κοκκιώδες, άποκολλώμενα κατά τόπους έκ του ταπήτιου. Μετά χρώσιν δι' αίματοξυλίνης-ήωσίνης (καλλιέργειαι επί καλυπτρίδων εις σωλήνας Leighton), διεπιστώθησαν ένδοπυρηνικά έγκλειστα τύπου Α του Cowdry, καταλαμβάνοντα όλόκληρον σχεδόν τόν πυρήνα του κυττάρου, διαχωριζόμενα έκ της άπωθημένης εις την περιφέρειαν του πυρήνος χρωματίνης υπό λεπτής άλω.

Ο τίτλος του καλλιεργηθέντος ίου, κατά την 4ην διόδον, άνήρχετο εις 10^7 , * TCID₅₀/ml (Tissu Culture Infectious Doses 50%, εις τó ml).

ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΙΣ ΑΠΟΜΟΝΩΘΕΝΤΟΣ ΙΟΥ (ΣΤΕΛΕΧΟΣ Μ/68).

Διά της δοκιμασίας της όροεξουδετερώσεως, έγένετο ή έπιβεβαίωσις ότι ό καλλιεργηθείς ίός, τόν όποιον θέλομεν άποκαλεί στέλεχος Μ/68, προήρχετο πράγματι έκ της έστίας της νόσου, καθόσον ούτος έξουδετερούτο υπό του άντιστοίχου όρου του ίαθέντος έν τη έστία μόσχου (έξ ού ειχε ληφθή τó αίμα, έκ του όποιου άπεμονώθη τó στέλεχος Μ/68), εις άραίωσιν 1/64.

Η περαιτέρω ταυτοποίησις του ίου Μ/68 έγένετο διά δοκιμασιών διασταυρουμένης όροεξουδετερώσεως, έκτελεσθεισών, ως και ή προηγούμενη, επί ίστοκαλλιεργείων και διά της μεθόδου: σταθερός ίός 100 μονάδες TCID₅₀/0,1 ml + όρds ήραιωμένος, κατά γεωμετρικήν πρόδον 2.

Αί έν λόγω δοκιμασίαι απέδωσαν τά έξῆς άποτελέσματα:

α) 'Ιός ΛΡΒ (IBR—στέλεχος 'Αμερικής)—όρds ίαθέντος ως άνω μόσχου: έξουδετέρωσις εις άραίωσιν 1/64.

β) Ίος M/68 + υπεράνοσος όρος κονίκλου (παρασκευασθείς έκ στελέχους IBR Ἀμερικῆς): έξουδετέρωσις εἰς ἀραίωσιν 1/32.

Εἰς ἑτέραν ἀνάλογον δοκιμασίαν, μὲ σταθερὸν όρὸν καὶ ἀραίωσιν τοῦ ιοῦ, τῇ ἐπιδράσει τοῦ ἀνωτέρω υπερανόσου όρου κονίκλου, ὁ τίτλος τοῦ ιοῦ M/68 ἐμείωθη κατὰ 3 λογαρίθμους (ἀπὸ $10^{7.5}$ εἰς $10^{7.5}$. Δείκτης έξουδετερώσεως 3).

Οἱ ὡς ἄνω τίτλοι όροεξουδετερώσεως 1/32 καὶ 1/64 εἶναι λίαν ἐνδεικτικοί, ἀφ' ἑνὸς μὲν τῆς υπάρξεως εἰδικῶν έξουδετερωτικῶν ἀντισωμάτων ἐντὸς τῶν έξετασθέντων όρων, ἀφ' ἑτέρου δὲ τῆς ταυτότητος τῶν δύο ὑπὸ σύγκρισιν ἰῶν, ἥτοι τοῦ ιοῦ Λοιμώδους Ρινοτραχειίτιδος (στέλεχος Ἀμερικῆς) καὶ τοῦ ἡμετέρου ιοῦ M/68.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΝΟΣΟΥ

Διὰ τὴν ἀναπαραγωγὴν τῆς νόσου ἐχρησιμοποιήθη μόσχος θῆλυς, ἡλικίας 12 περίπου μηνῶν. Ἡ μόλυνσις τοῦ ζώου ἐγένετο δι' ἐνδοφλεβίου ἐγχύσεως 5 ml ιοῦ καλλιεργείας, ἔχοντος τίτλον $10^{7.5}$ ml. Πρὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμού ἐλήφθη αἷμα πρὸς ἔλεγχον ἀντισωμάτων (ἀπουσία), ὡς καὶ ἡ θερμοκρασία τοῦ ζώου ($38^{\circ},5$).

Καίτοι ἀναγνωρίζεται γενικῶς ὅτι ἡ πειραματικὴ νόσος δι' ιοῦ καλλιεργείας, εἰς τὴν περίπτωσιν τῆς ΛΡΒ, ὡς ἄλλωστε καὶ εἰς τὰς πλείστας ἰώσεις, διατρέχει πλέον ἡπίως, ἢ ἀναπαραχθεῖσα ἐν τῷ Ἰνστιτούτῳ νόσος ἐλάχιστα διέφερεν εἰς σοβαρότητα συμπτωμάτων τῆς φυσικῆς νόσου, γεγονός, ὅπερ διεπίστωσε καὶ ὁ ἰδιοκτήτης τῶν νοσησάντων μόσχων, ἐπισκεφθεὶς τυχαίως τὸ Ἰνστιτούτον, κατ' ἐκείνην τὴν ἐποχὴν.

Ἦδη, 24 ὥρας μετὰ τὸν ἐνοφθαλμισμόν, τὸ ζῶον ἐξεδήλωσε τὰ πρῶτα συμπτώματα ἀδιαθεσίας: $\Theta^{\circ} 40^{\circ},1$ (πρωῖα)- $41^{\circ},6$ (ἐσπέρας), ἐλαφρὰ ἀνορεξία, σιελόρροια, ρινικὸν ἔκκριμα ὀρῶδες, ἐξ ἀμφοτέρων τῶν ρωθόνων. Κατὰ τὰς ἐπομένας δύο ἡμέρας, ἡ γενικὴ κατάστασις τοῦ ζώου ἐπεδεινώθη: $\Theta^{\circ} 41^{\circ},3$ - $41^{\circ},6$, τελεία ἀνορεξία, πλήρης κατάπτωσις, ταχύπνοια, σιελόρροια, πλέον ἄφθονος, ἐλαφρὰ δακρύρροια, τριγμὸς τῶν ὀδόντων, ἀραιὸς βήξ, ἐλαφρὰ υπεραιμία τοῦ στοματικοῦ βλεννογόνου, συνοδευομένη ὑπὸ μετρίας ἐξοιδήσεως τῶν θηλῶν, ἰδίᾳ κατὰ τὴν συνένωσιν τῶν χεϊλέων. Ἀπὸ τῆς 4ης ἡμέρας παρατηρήθη βαθμιαία ὑποχώρησις τῶν συμπτωμάτων ($\Theta^{\circ} 40^{\circ},5$ - $40^{\circ},8$). Τὴν 5ην ἡμέραν ὁ πυρετὸς κατῆλθεν εἰς $39^{\circ},5$ - $39^{\circ},2$ καὶ περὶ τὴν 8ην ἡμέραν τὸ ζῶον ἐθεωρήθη ἱαθέν.

Ἐκ τῶν παθολογικῶν ὑλικῶν, ἅτινα ἐλαμβάνοντο τακτικῶς ἀνὰ 24 ὥρον (ρινικὸν καὶ ὀφθαλμικὸν ἔκκριμα, αἷμα) ἀπεμονώθη ἐκ νέου ὁ ἐνοφθαλμισθεὶς ἰὸς M/68, ὅστις έξουδετεροῦτο: α) εἰς ἀραίωσιν 1/16 ὑπὸ τοῦ μετὰ 20 ἡμέρας ἀπὸ τοῦ ἐνοφθαλμισμού ληφθέντος όρου τοῦ μόσχου. β) εἰς ἀραίωσιν 1/32 ὑπὸ τοῦ όρου τοῦ νοσήσαν-

τος ἐν τῇ ἐστίᾳ μόσχου, καὶ γ) εἰς ἀραίωσιν 1/32 ὑπὸ τοῦ ὑπερανόσου ὁροῦ κονίκλου ἀντι-IBR (στελέχους Ἀμερικῆς).

Σ Υ Μ Π Ε Ρ Α Σ Μ Α

Ἐκ τῶν ἀνωτέρω προκύπτει ὅτι ὁ ἀπομονωθεὶς ἰός ἐκ νοσηρῶν τῶν μὲ ἀναπτυσσόμενα κυρίως συμπτώματα μόσχων παχύνσεως εἶναι ἰός Λοιμώδους Ρινοτραχειίτιδος τῶν Βοοειδῶν, τὸ πρῶτον διαπιστούμενος ἐν Ἑλλάδι. Αἱ μορφολογικαὶ ἀλλοιώσεις τῶν κυττάρων εἰς τὰς μεμολυσμένας καλλιεργείας καὶ ἰδίᾳ αἱ δοκιμασίαι τῆς διασταυρουμένης ὁροεξουδετερώσεως διὰ τοῦ Ἀμερικανικοῦ στελέχους τοῦ τῆς Νόσου Ρινοτραχειίτιδος τῶν Βοοειδῶν (IBR) πείθουν ἄρκουντως περὶ τῆς ταυτότητος τῶν δύο ἰῶν. Ὡς δὲ τονίζουν καὶ οἱ πλέον ἴσως εἰδικοί ἐπὶ τῆς ΛΡΒ Ἀμερικανοὶ ἐρευνηταὶ Mc Kercher καὶ Saito (1) «οὐδεὶς ἕτερος ἰός, ἐξ ὧν μολύνουν τὰ βοοειδῆ, δίδει διασταυρουμένην ἐξουδετέρωσιν μετὰ τοῦ ἰοῦ τῆς λοιμώδους ρινοτραχειίτιδος». Αἱ τελευταίως προστεθεῖσαι συμπληρωματικαὶ μέθοδοι διαγνώσεως τοῦ ἰοῦ διὰ φθοριζόντων ἀντισωμάτων καὶ τοῦ ἠλεκτρονικοῦ μικροσκοπίου ἀφοροῦν κυρίως εἰδικὰς περιπτώσεις, ὡς μικτὰς μολύνσεις (Gratzek καὶ συν. 2) ἢ ἐπανελέγχον στελεχῶν (Fernelius καὶ Ritchie (3).

R É S U M É

Isolement et Identification du Virus de la Rhotrachéite Infectieuse Bovine chez des veaux d'engraissement.

P a r

P. Stouraitis et J. Cardassis

(Institut de Fièvre Aphteuse-Aghia Paraskevi-Attikis-Grèce)

Le virus de la RTIB (IBR) a été isolé à partir d'une maladie à prédominance respiratoire observée chez des veaux d'engraissement. Ce virus titrant $10^{7.5}$ DCP ($TCID_{50}$)/ml au 4ème passage a été isolé du sang d'animal malade, prélevé eu période d'hyperthermie ($T^{\circ} 40^{\circ},7$).

L'identification du virus a été faite sur la base des altérations morphologiques des cellules en culture de tissus (testicules de veau) et surtout par des réactions sérologiques pour lesquelles on s'est servi d'une souche Américaine de virus IBR, aimablement envoyée par les Prof. Gillespie et Fabrykant que nous remercions ici très vivement. Les titres de neutralisation obtenus oscillaient entre 1/16, 1/32, et 1/64 (sérum hyperimmun de lapin ou prélevé che des animaux guéris 20 jours après le début de l'infection naturelle ou expérimentale).

(1) Proc. 68th Ann. Meet. U.S. Livestock Sanit. Ass. 1964 p. 518-524.

(2) Am. J. vet. Res., 1966, 27, 1563-1582 καὶ 1583-1950.

(3) Am. J. vet. Res. 1966, 27, 241-248.